

Aus dem Pathologischen Institut der Universität Würzburg.

Kernschwund und Protoplasmagerinnung bei der Koagulationsnekrose *.

Von

HERMANN GROLL†.

(Eingegangen am 25. März 1948.)

WEIGERTS Koagulationsnekrose — umstritten und mißverstanden schon wegen der Wortbildung — aber doch fast allgemein anerkannt bietet auch heute noch manches Rätsel bei dem Versuch, eine Erklärung für die Einzelvorgänge zu geben, die sicherlich zum voll ausgeprägten Bild der koagulierenden Nekrose (v. RECKLINGHAUSEN) führen. Seit P. ERNST im Handbuch von KREHL-MARCHAND in seinen klassischen Ausführungen über „Zelltod, Kernschwund und Kernzerfall“ und über „Tod und Nekrose“ unsere damaligen Kenntnisse zusammenfassend darstellte, sind fast 25 Jahre vergangen, in denen manche Arbeiten neue Momente zur Klärung einzelner Fragen beibrachten. Auch scheint es angebracht zu untersuchen, ob die vorausschauenden Worte von ISRAEL, die Koagulationsnekrose könne erst wieder zu Anerkennung gelangen, wenn wir von den chemisch-physikalischen Eigenschaften der Zelle mehr wissen, oder die ähnliche Äußerung von ERNST „Über den Begriff der Koagulation der Kolloidchemie, die unseren Anschauungen weit entgegenkommen“, heute schon in Erfüllung gegangen sind.

I. „Kernschwund“ bei der Koagulationsnekrose.

Es ist verständlich, daß unter den drei Hauptpunkten, mit denen WEIGERT die Koagulationsnekrose charakterisierte, der makroskopische Befund der „Fibrinähnlichkeit“ heute kaum mehr eine Rolle spielt, daß aber die beiden anderen Merkmale der nekrotischen Zelle, nämlich Kernschwund und Protoplasmagerinnung bei den Untersuchungen der letzten Jahre überwiegend Beachtung fanden, weniger in deskriptiv-morphologischer Richtung als hinsichtlich ihrer Bedeutung und Entstehung. Allerdings beschäftigen sich auch schon die Arbeiten aus dem vorigen Jahrhundert nicht nur mit der reinen Morphologie des Kernschwundes und -zerfalles; der seither eingebürgerte Ausdruck „Auslaugung“ des Chromatins zeigt schon, daß als Ursache

* Mit einem Nachwort von Prof. Dr. ERICH MÜLLER, stellvertretendem Leiter des Instituts.

für den Kernschwund eine Durchströmung des Gewebes mit alkalischer Flüssigkeit angenommen wurde. WEIGERT sah den Grund für die Auslaugung in der Durchströmung mit Lymphe, KLEBS in der Wirkung alkalischer Amine; ARNHEIM und KRAUS konnten die Auslaugung durch Einlegen in verschiedene Flüssigkeiten erzielen, und wenn letzterer auch die Durchströmung und damit Auslaugung zum Teil bezweifelt, so führt er die morphologischen Veränderungen beim Kernschwund — ähnlich wie SCHMAUS und ALBRECHT, die Hauptverteidiger der WEIGERTschen Lehre —, doch auch auf chemische Vorgänge molekularer und physikalischer Art zurück.

Im neuen Jahrhundert hat sich nach RICHTER, der Transplantate untersuchte, in „Beiträgen zur Kenntnis des Nierensequesters“ auf Grund zahlreicher Versuche Moos eingehend mit der Koagulationsnekrose beschäftigt. Das Abblassen der Kerne, der Kernschwund bis zur Unsichtbarkeit, soll durch die auf geringe Entfernung von der Oberfläche nicht nur eindringende, sondern auch sich im Durchfluß befindliche Lymphe erfolgen. Die wechselnden Befunde des Kernschwundes an Ätzschorfen mit anschließender Eiterung und Nekrose, an größeren und kleineren Infarkten und Implantaten führt er auf die mehr oder minder starke Durchströmung zurück und bringt z. B. die wechselnd gut erhaltene Kernfärbung im Infarkt im Zusammenhang mit der Größe des Infarktes, insofern, als bei großen Infarkten die Kerne auch nach einigen Tagen nur dort geschwunden seien, wo auch nachweislich eine Strömung stattfindet, nämlich in der äußersten Peripherie. Wenn er auch die Rolle der Flüssigkeit beim Kernschwund entsprechend der WEIGERTschen Annahme im Prinzip bestätigt, so faßt er doch die Intensität und Extensität der Strömung anders auf als WEIGERT, da oft noch nach Tagen die Kerne erhalten seien. Da Tuscheteile im Infarkt von außen her nur wenig weiter eindringen als die Leukocyten, so wird der Infarkt als Ganzes „nicht in der intensiven Weise durchströmt, wie WEIGERT annahm und annehmen mußte“. Die schmale periphere Zone mit ihrer Beziehung zum strömenden Blut und der Lymphe ist gegenüberzustellen dem Zentrum, in dem nur eine träge Diffusionsströmung stattfindet. Über die Art und Weise, wie die Durchströmung den Kernschwund hervorruft, äußert sich Moos aber nur hypothetisch: die Nucleoproteide des Chromatins seien in Wasser und Salzlösungen löslich, so daß in nichtcoagulierten Zellen die Kerne leicht schwinden — nach der Koagulation seien die Nucleinsäuren von den denaturierten Eiweißstoffen unverändert wieder abspaltbar, vielleicht unter dem Einfluß der Lymphe. Nach Lösung der Nucleinsäure färbe sich dann das übrigbleibende Kerneiweiß nicht mehr mit basischen Farbstoffen. Auch BENEKE kommt bei Untersuchungen über peritoneale Transplantation verschiedener Organstücke

auf die morphologischen Zeichen des Zelltodes zu sprechen. Während das tatsächliche Absterben durch kein morphologisches Merkmal festzustellen ist, sind die später auftretenden nachweisbaren Abweichungen vom Bild der lebenden Zelle, die im engeren Sinn als Nekrose bezeichnet werden, hinsichtlich des Zeitpunktes für das Auftreten und hinsichtlich ihrer formalen Besonderheit abhängig von den jeweiligen Bedingungen der Inhaltsmassen der Zellen selbst; er vermutet endogene Produkte, die die Nucleinzerstörung beschleunigen und deren Fehlen das lange Erhaltenbleiben (z. B. der Bindegewebskerne) erklären würde. Aber auch die Umgebung der Zellen hat Einfluß und BENEKE prägt für beide Wirkungen und ihre Folgen die Namen Autoschisis und Alloioschisis, wobei die Autolyse nur ein Teiglied der Autoschisis sei, da ja nicht alle Zersetzungs Vorgänge auch zur Produktion löslicher Substanzen führen. In ähnlicher Weise hatte ja auch schon v. GAZA Autolyse, Heterolyse und Histolyse oder Isolyse unterschieden, ebenso wie RÖSSLER bei entzündlichen und nekrotischen Prozessen. Mit der Anwendung dieser Namen mußte natürlich das Bedürfnis auftreten, womöglich die Ursachen dieser verschiedenen Lösungs- und Zerfallsvorgänge genauer zu erforschen. Während noch SCHNAPPAUFF in seiner gerade für die neueren Untersuchungen über Infarktentstehung grundlegenden Arbeit nur ganz allgemein der RIBBERTSchen Ansicht zustimmt, daß eine Auslaugung (besonders in der Randzone der primären Nekrose) durch die starke Strömung stattfindet, denkt LETTERER bei implantierten Leberstückchen an einen von außen eindringenden „Nekrotisierungseffekt“. In Anlehnung an SCHÜRMANNs Dysorielehre glaubt er, daß im lebenden Gewebe und in seinen Säften nicht nur gewebserhaltende, sondern auch gewebserstörende Stoffe vorhanden seien. SCHÜRMANN führt in einer Diskussionsbemerkung zu LETTERER die Infarktnekrose auf die Wirkung des Blutserums zurück, während DIETRICH auf den Unterschied hinweist, der im Implantat durch autolytischen Zerfall absterbender Zellen, durch Fixierung toter Zellen, durch Koagulation unter Mitwirkung eindringenden Plasmas und endlich durch Auslaugen eintritt. Im gleichen Jahr zeigte MERKLE in Untersuchungen über Karyolyse durch Einwirkung von Fermentlösungen auf Gewebsschnitte, daß sowohl die kadaveröse, wie die intravitale Chromatolyse sich durch die Annahme einer je nach dem Reaktionsmilieu verschieden ablaufenden Fermentwirkung viel zwangloser erklären lassen, als durch die sog. „Auslaugung“ des Chromatins. Am Beispiel des Infarktes nimmt sie im Gegensatz zu LETTERER und SCHÜRMANN an, daß in Randzone und Infarkthauptgebiet die Zellen sicher tot seien und die mangelnde Kernfärbung des Randgebietes vor allem durch das für die Fermentwirkung (im Gegensatz zum kernhaltigen Zentrum) bessere alkalische

Reaktionsmilieu bedingt sei, nicht aber, wie LETTERER, SCHÜRMANN und HAMMEL (bei Untersuchung einer implantierten Kalbshypophyse) glauben, durch Lebendbleiben des Gewebes. Damit war die schon von BENEKE eindeutig verneinte Ansicht, es sei Kernfärbbarkeit gleichbedeutend mit Zelleben, erneut zur Diskussion gestellt; denn die Frage nach Leben oder Tod der Zelle ist nicht nur von Bedeutung für die Lehre von der Nekrose, sondern auch für die Lehre SCHÜRMANNs von der schädigenden Einwirkung der „Milieuveränderung“ auf Parenchymzellen vor allem durch die aus den Gefäßen bei Dysorie austretende Flüssigkeit — so wie auch ROESSLE auf Grund von Untersuchungen an Implantaten annimmt, daß die Säfte des Wirtes zur Abtötung der Parenchymzellen in der Randzone eines Implantates genügen. SCHÜRMANN selbst hat dann durch Explantate von Lebergewebe (sein Schüler PETER durch Herzmuskelexplantate) darzutun versucht, daß die Parenchymschädigungen besonders durch humorale Milieuveränderung verursacht werden. Da die nekrotisierende Wirkung des Serums hitzeempfindlich ist, sei der wirksame Faktor vielleicht fermentativer Natur; doch lasse auch die Verzögerung der Serumwirkung bei Inaktivierung des Substrates (durch vorheriges Kochen der Organstückchen) erkennen, daß auch die Zellen selbst einen Faktor für das Zustandekommen der Nekrose stellen. Flüssigkeiten, die infolge Dysorie mit dem nackten Parenchym in Berührung kommen, verursachen zuerst Denaturierungserscheinungen am Protoplasma der Parenchymzellen und dann Kernschwund; „oder eben — und das gilt für das Zentrum des Infarktes und Implantates — die Gewebe bleiben sich selbst und damit der Autolyse überlassen“. „Die histologisch verfolgbaren Vorgänge im Infarkt, Implantat und in vitro-Explantat mit Serum als Medium entsprechen sich weitgehend.“ Gleichzeitig mit SCHÜRMANN hat TERBRÜGGEN an Explantaten gefunden, daß durch frisches Serum sehr schnell nekrotische Veränderungen erzeugt werden, während bei 58° inaktiviertes Serum erhaltend auf das Gewebe wirkt, wie ja auch SCHÜRMANN eine lebend erhaltende Wirkung von Embryonalgewebsspreßsaft zeigen konnte. Über die Natur der thermolabilen Serumfaktoren kann TERBRÜGGEN nichts Sicheres aussagen, er lehnt zunächst einen fermentativen Vorgang ab, gibt aber später zu, daß fermentative Vorgänge eine Rolle spielen können. Bei morphologischen Infarktstudien unterscheidet R. MÜLLER ähnlich wie SCHENAPAUFF 4 Zonen, von denen er zwei dem Infarkthauptgebiet zuteilt, wo infolge Abschluß von der Säftezirkulation Autolyse mit den Merkmalen einer Nekrobiose auftritt, und zwei dem Infarkttrandgebiet, wo in der Innenzone die auftretende Protoplasmagerinnung und rascher Zellschwund entweder eine unmittelbare „vitale Reaktion“ (ORSOS) sein sollen oder aber im Sinne der Dysorielehre auf eine

Durchtränkung mit eiweißreicher Flüssigkeit zurückgeführt werden. Die Veränderungen der äußeren Randzone sollen schwächere Grade derjenigen der inneren Randzone darstellen. Gegen die Annahme einer Schädigung lebender Zellen infolge von Dysorie wendet sich nun GUILLERY, indem er darauf hinweist, daß implantierte Gewebstückchen eine Außenzone lebender Zellen haben, die nur bei besonders empfindlichen Parenchymen fehlt; und daß diese lebenden Zellen gerade in nächster Nachbarschaft von Blutgefäßen, Blut des Wundbettes oder der umgebenden Granulationen liegen, also keine dysorische Schädigung zeigen; er kommt also zum Schluß, es seien die am Transplantat sichtbaren Schädigungen anoxämisch bedingt, ohne daß sich eine dysorische Schädigung nachweisen lasse. Gestützt wird diese Ansicht durch die Untersuchungen HEIMS, der durch Reimplantation von Transplantaten nachweisen konnte, daß die zentralen noch kernhaltigen Teile der Organstückchen abgestorben sind, bei Niere und Leber z. B. sicher schon nach 14 Stunden, bei widerstandsfähigeren Geweben später; denn bei den vorher halbierten Reimplantaten waren an der neu entstandenen Oberfläche keine lebenden Zellen mehr nachweisbar, wie sie sonst in der äußersten Schicht außerhalb der „primären Nekrose“ in Implantaten gefunden werden. Aus dem Erhaltensein von Kernen allein kann also nicht ersehen werden, ob die Zelle lebend oder tot ist. LÖBBERT allerdings schließt bei Explantatversuchen doch wieder aus dem Vorhandensein gut erhaltener „Außenzellen“ auf die Fähigkeit des Serums und defibrinierten Blutes, lebendes oder lebensfähiges Gewebe zu erhalten, während totes abgebaut werde — dieser Schluß hat allerdings seine Berechtigung darin, daß diese Außenzellen ja bei Transplantaten weiterleben. Zur Frage, ob die Randentkernung des Explantates nur als Folge der Serumwirkung und nicht ebenso als Folge einwirkender Gewebsbestandteile gedeutet werden kann, untersuchte LÖBBERT Explantate in blutfreien Organ-säften und fand — wie SCHÜRMANN bei Embryonalextrakt — keine entkernte Randzone. Als weiteren Beweis gegen dysorische Schädigung des Gewebes dient GUILLERY der Nachweis, daß in Lungenarterien embolisierte Organstückchen sich wie Transplantate verhalten und insbesondere auch eine lebende Randzone von Parenchym haben, so daß hierdurch bei der denkbar nahen Berührung dieser Randteile mit dem Blut eine Schädigung des lebenden Parenchyms durch Blutbestandteile unwahrscheinlich wird. GUILLERY hat dann noch weitere Versuche zum Nachweis dysorischer und anoxämischer Schädigungen am Transplantat und Explantat ausgeführt und durch Granulafärbung zeigen können, daß in den Innenzonen nach wenigen Stunden nur noch tote Parenchymzellen vorhanden sind und nur in der äußersten Randzone noch lebende Zellen vorkommen — an Menge verschieden je nach

der Widerstandsfähigkeit des Parenchyms. Auch fehlte die lebende Außenzone (oder war sehr schmal), wenn die Transplantatstückchen vorher sauerstofffrei aufbewahrt wurden, während sie bei achtstündigem vorherigen Liegen in O_2 -durchströmten Blut deutlich ausgebildet war, ein Befund, der nur im Sinn anoxämischer Schädigung gedeutet werden kann.

Ein Rückblick auf das erwähnte vorwiegend auf morphologischen Untersuchungen fußende Schrifttum läßt hinsichtlich des Kernschwundes bei Koagulationsnekrose folgende hauptsächlich umstrittene Fragen erkennen:

1. Ist der Kernschwund ein Kardinalsymptom der Nekrose in dem Sinne, daß ohne Kernschwund keine Nekrose vorliegt, oder gibt es eine Nekrose mit erhaltenen Kernen, oder sind etwa bei erhaltenen Kernen die Zellen nicht tot, sondern lebend, d. h. bei Entnahme aus dem Körper lebend gewesen?

2. Was sind die eigentlichen Ursachen des Kernschwundes?

3. Wirken diese Ursachen auf vollständig gesunde, auf geschädigte oder nur auf tote Zellen?

Die Beantwortung der ersten Frage hängt weitgehend damit zusammen, was man unter Nekrose, nekrotisch versteht. Der Pathologe untersucht ja heute meist fixiertes, also sicher totes Gewebe, tote Zellen, bei denen die Kerne gut erhalten sind — aber ob sie bei Entnahme aus dem Körper lebend oder tot waren, kann er aus der Kernbeschaffenheit nicht ohne weiteres erschließen. Da uns schon durch die klassischen Untersuchungen im vorigen Jahrhundert (Literatur bei ERNST) gezeigt wurde, daß Kernschwund auch die Folge postmortaler Vorgänge (Autoschisis und Autolyse) sein kann, so wird man zum Unterschied von solchen kadaverös kernlosen Zellen dann von Nekrose sprechen, wenn man zum Ausdruck bringen will, daß offenbar schon im Körper, — also noch vor der Fixierung — die Zellen tot waren. Dementsprechend wird als Nekrose der örtliche Gewebstod bezeichnet. Es könnte allerdings erklärend noch angeführt werden, daß die einmal tote Zelle im Körper noch aus sich selbst heraus (Autoschisis BENEKES) oder durch Einwirkung vom lebenden Körper (Alloioschisis), seinen Säften oder Geweben, nach kürzerer oder längere Zeit Veränderungen erleidet, ja daß vielleicht schon vor dem endgültigen Zelltod solche Veränderungen — z. B. unter den Zeichen der Zelldegeneration — eintreten können, also dann, wenn die Zelle allmählich im Sinne der Nekrobiose abstirbt. In Anbetracht derartiger Überlegungen erscheint es nicht angebracht, im strengsten WEIGERTschen Sinn nur solches Gewebe nekrotisch zu nennen, bei dem keine Kernfärbung mehr nachweisbar ist. Andererseits ist es auch wieder unzweckmäßig, etwa nur den frischen örtlichen Gewebstod, der morphologisch unter Umständen überhaupt

noch nicht erkennbar ist, als Nekrose zu bezeichnen — wie das GUILLERY tut —, denn dann wird man mikroskopisch so gut wie nie eine Nekrose auffinden. Für die nach dem örtlichen Gewebstod einsetzenden Veränderungen müßte man dann einen neuen Namen einführen — etwa mit GUILLERY von Nekrolyse sprechen, wobei er unter Nekrolyse Abbauvorgänge durch Autolyse und Heterolyse versteht. Übrigens werden auch diese Ausdrücke nicht eindeutig angewendet und BENEKE schlägt mit gewissem Recht die Namen Autoschisis und Alloioschisis vor, da er z. B. die Autolyse nur als einen Teilvorgang der Autoschisis bezeichnet; denn nicht alle Zersetzungs Vorgänge führen auch zu löslichen Produkten. Noch weiter geht BORGER, für den eine Autolyse „chemisch“ betrachtet nur dann vorliegt, wenn auf Kosten der hochmolekularen Stoffe die niedrigmolekularen Abbauprodukte mengenmäßig zunehmen, so daß also eine Spaltung des Zelleiweißes in flüssige hochmolekulare Eiweißstoffe keine Autolyse wäre. Andererseits wirft R. MÜLLER die Frage auf, ob die Autolyse nur ein postmortaler und nicht auch ein Absterbe- oder in ihren ersten Anfängen sogar ein rückbildungsfähiger Degenerationsvorgang sei und identifiziert z. B. die im Infarktgebiet auftretende Autolyse mit Nekrobiose. Bei dieser so verschiedenen Anwendung der einzelnen termini bleibt nichts anderes übrig, als möglichst klar zum Ausdruck zu bringen, was wir im Einzelfall meinen. Und so werden wir unsere erste Frage dahin beantworten, daß *der Kernschwund dann ein Kardinalsympton der Nekrose ist, wenn wir kadaveröse Vorgänge ausschließen können. Aber auch bei erhaltener Kernfärbung kann eine Nekrose — ein örtlicher Gewebstod — vorliegen, wobei wir aber aus anderen Umständen das Vorliegen des Zelltodes beweisen müssen. Somit darf aus dem Erhalten-sein des Kernes nicht auf Lebensfähigkeit der Zelle geschlossen werden* (BENEKE, STÄMMLER, SIEGMUND, HEIM und GUILLERY im Gegensatz zu LETTERER und SCHÜRMAN). Ob der Kern nach dem Fixieren färbbar ist, hängt also nicht ohne weiteres nur vom vorherigen Leben oder Tod der Zelle ab, sondern ist bedingt durch eine ganze Reihe von Umständen, unter denen wir wohl nur einige wenige kennen, z. B. vom Zustand der Zelle vor dem Tod, von ihrer Funktion oder Schädigung, von der Art der Zelle, ihrer Widerstandsfähigkeit, von der Zeit, die seit dem Zelltod oder ihrer Schädigung verflossen ist, von den Einflüssen, die von außen, aus dem Körper, seinen Geweben und Säften auf die Zelle einwirken oder wechselnd eingewirkt haben. Auf diese verwickelten Momente wird später noch näher einzugehen sein. *Das morphologische Bild der Nekrose ist jeweils sehr wechselnd, gewissermaßen immer nur das gerade festgehaltene Zustandsbild eines allerdings langsam, aber doch fortschreitend ablaufenden Geschehens, das erst spät zu einem Ende führt.*

Für die zweite Frage nach den eigentlichen Ursachen des Kernschwundes ergeben sich aus der bisher angeführten Literatur nur vage Vermutungen und Hypothesen. Die älteren Erklärungsversuche, wonach alkalische Amine (KLEBS) oder chemische Vorgänge molekularer und physikalischer Art (KRAUS, SCHMAUS und ALBRECHT) zur Auflösung der Kerne führen, geben uns keine Vorstellung über den eigentlichen Vorgang. Die Annahme von MOOS, die Nucleoproteide lösten sich leicht in Wasser und Salzlösungen und dadurch verschwänden die Kerne, erklärt nicht, warum sie das erst nach dem Zelltod tun. Wenn weiterhin nach eventueller Gerinnung des Zelleiweißes die Nucleinsäuren sich abspalten sollen, so daß dann das übrigbleibende Kerneiweiß sich nicht mehr mit basischen Farbstoffen färbt, so bleibt ungeklärt, wie eine solche Abspaltung erfolgt. Soll sie rein chemisch etwa durch Alkalisierung oder fermentativ bedingt sein? Im ersteren Falle würde sie also dem entsprechen, was der eingebürgerte Ausdruck „Auslaugung“ besagt. Aber dieses Schlagwort gibt auch keine Erklärung, und bei kritischer Würdigung der verschiedenen „Auslaugungsversuche“ stößt man auf mit einfacher „Auslaugung“ unvereinbare Widersprüche. Zunächst, wie kommt es dann, daß bei verschiedenen Gewebsarten einzelne Kerne sehr rasch schwinden, während andere sich außerordentlich lange färbbar erhalten? Hier müßte eine neue Hypothese eintreten; man muß annehmen, daß einzelne Gewebe „widerstandsfähiger“ sind, etwa dadurch, daß in diesen Zellen die alkalische Flüssigkeit schwerer eindringt oder daß das Kerneiweiß bei ihnen anders zusammengesetzt und chemisch schwerer spaltbar ist. Aber wie soll man dann erklären, daß z. B. Serum als alkalische Flüssigkeit die Kerne „auslaugt“, aber nach der Hitzinaktivierung trotz offenbar gleichbleibender Alkalität nicht mehr „auslaugend“ wirkt (TERBRÜGGEN)? Oder wenn wir nicht die Heterolyse, sondern die Autolyse in Betracht ziehen: wie erklärt sich hier der Kernschwund, wo doch bei der Autolyse sich regelmäßig eine Wasserstoffionenkonzentration von p_H 6—6,5 einstellt? Hier besteht ja überhaupt keine Alkalität, von einer „Auslaugung“ kann also überhaupt keine Rede sein. Diese Widersprüche lassen sich beheben und die weiteren Schlagworte der Autoren wie: „nekrotisierender Faktor“, „thermolabiler Faktor“, „gewebszerstörende Stoffe“, „schädigende Einwirkung der Milieuveränderung“, „vitale Reaktion“, „fermentative Wirkung“ lassen sich ersetzen durch die präzisere Annahme, daß eiweißspaltende Fermente, Proteinasen, die Kernsubstanzen angreifen und dadurch unfärbbar machen, wie dies G. MERKLE in ihren gemeinsam mit mir ausgeführten Untersuchungen über die Einwirkung von Fermenten auf Gewebsschnitte ausführt. Die Kernsubstanzen können als Nucleoproteide von pepsin-, kathepsin- oder trypsinartigen Enzymen

angegriffen werden. Natürlich könnte man auch an Nucleasen, Amidasen und Peptidasen denken; aber diese greifen ja genuine Proteine nicht an und ihrem Angriff muß also doch eine Spaltung durch Proteinasen vorhergehen. Für Peptidasen hat übrigens MERKLE gezeigt, daß sie die Kernfärbung an Gewebsschnitten nicht beeinflussen. Pepsinartige Fermente kommen bei der Kerneiweißspaltung nicht in Betracht; das Optimum ihrer Wirkung liegt so weit im sauren Bereich, daß es weder intravital noch bei der Autolyse je erreicht werden kann; auch bleibt bei Behandlung von Gewebsschnitten mit Pepsin die Kernfärbung erhalten (MERKLE). So bleiben also noch die Kathepsine (Zoopapainasen) und Tryptasen.

Was lehrt nun die Fermentchemie über das Vorkommen dieser Fermente im Körper? Nach OPPENHEIMER ist Kathepsin nachgewiesen in Leber, Niere, Lunge, Muskel, Haut, Speicheldrüsen, endokrinen Organen, Gehirn, Uterus und Ovarien, Placenta, Leukocyten und Tumoren. Tryptase ist fermentchemisch zu finden außer im Pankreas vor allem in den Leukocyten, in Speicheldrüsen und in der Milz. Das normale Blutserum enthält sicher Proteinase und zwar sowohl Tryptase wie Kathepsin; aber sie sind nach OPPENHEIMER „zum erheblichen Teil oder völlig maskiert, d. h. inaktivierend gebunden oder adsorbiert an die Kolloide des Serums, vor allem an Proteine“ (Sistoproteinase, Antitrypsine). „Es genügen relativ leichte Erschütterungen dieses kolloidalen Gleichgewichtes um die Fermente nachweisbar zu machen.“ Die erste Vorbedingung für eine etwaige Wirkung von Proteinase beim Kernschwund, nämlich die Anwesenheit in Geweben und Säften, ist also gegeben. Eine zweite Bedingung ist die, daß die Fermente unter den jeweils gegebenen pathologischen Verhältnissen auch wirksam werden können. Dazu gehört: die Enzyme müssen sich im aktivierten Zustand befinden, es dürfen keine Hemmungen vorliegen und der Wasserstoffionengehalt des Reaktionsortes muß entsprechend (wenn auch nicht optimal) sein. Nach OPPENHEIMER sind die Proteinase in der lebenden Zelle mehr oder weniger völlig passiviert, insofern als sie wahrscheinlich bei Oxybiose mangels freier SH-Gruppen inaktiv, bei der relativen Anoxybiose aktiviert sind. Wenn auch die Einzelheiten noch nicht sicher sind, so kann man bei der Autolyse z. B. annehmen, daß SH-Körper, die eventuell neu entstehen, Aktivierung hervorrufen. Erwähnen möchte ich in diesem Zusammenhang auch eine eigene Beobachtung, nämlich, daß sowohl Trypsin wie Pepsin native Gewebsschnitte in gleicher Weise verdauen, ob sie aktiviert sind oder nicht. Man kann also wohl annehmen, es werde im Gewebe selbst die Aktivierung des Fermentes hervorgerufen. Wenn wir beim „fermentativen“ Kernschwund der nekrotischen Zelle neben der Autolyse eine etwaige Heterolyse durch

Gewebssäfte oder Serum usw. in Betracht ziehen, so müssen wir zunächst natürlich mit der Möglichkeit rechnen, daß z. B. im Serum die Enzyme inaktiv sind. Aber wenn wir daran denken, daß schon durch ganz geringe Einwirkungen (Verdünnung, Zusätze, z. B. Kasein zum Serum) eine Aktivierung eintritt, so kann vielleicht im Körper durch totes Gewebe (vgl. obige Aktivierung durch Gewebsschnitte) eine Aktivierung der Proteinase im Serum erfolgen.

Damit ist auch die Frage nach etwaiger Fermenthemmung angeschnitten, die von Fall zu Fall verschieden natürlich fehlen oder vorliegen kann; sie deckt sich zum Teil auch mit der Frage der Aktivierung insofern, als eine solche Hemmung durch Aktivierung des Fermentes beseitigt oder unwirksam werden kann. Eine der wichtigsten hemmenden oder fördernden Bedingungen ist endlich die Wasserstoffionenkonzentration. Ihre Kenntnis im toten Gewebe wird also sehr wichtig sein, wenn wir die eventuelle Wirksamkeit oder Unwirksamkeit von Proteinase beurteilen wollen. Hierüber haben wir einigermaßen ausreichende Kenntnisse: Zunächst hinsichtlich des toten Gewebes, wenn es der Autolyse unterworfen ist. Nach BRADLEY hört die Autolyse bei alkalischer Reaktion praktisch vollkommen auf, nach RONA bei p_H 8. SEVERINGHAUS gibt an, daß die Organzellen sofort nach dem Tod einen p_H von etwa 7,25 haben, aber sehr schnell sauer werden, so daß schon nach 4 Min. Leberbrei hauptsächlich durch Freisetzung von Phosphorsäure einen p_H 6,8 zeigt; die Vorbedingungen für Eintritt der Autolyse sind also gegeben. Nach einiger Zeit stellt sich dann ein p_H 6—6,5 ein. GRÄFF und RAPPOPORT stellten auch an Organen der menschlichen Leiche postmortale Säuerung fest, doch waren die p_H -Änderungen oft unübersichtlich und uneinheitlich. Sie weisen auch auf postmortale alkalische Reaktion bei Hungerzustand hin.

Im toten Gewebe aber, das im lebenden Körper verbleibt (z. B. im Infarkt) wird die Reaktion bald alkalisch, wie wir vor allem aus den Untersuchungen von KLEIMANN und REMESOW, BORGER und Mitarbeitern, KOLLER und LEUTHARDT, sowie BALDONI wissen. MOOS hatte allerdings schon früher auf die Alkalität des Infarktes hingewiesen, aber seine colorimetrische Methode war unzureichend. Er kam zur Ansicht, daß „der Infarkt dauernd alkalisch reagiert, wie die soeben dem Körper entnommene Niere des Kaninchens. Worauf die leichte Abnahme der Alkaleszenz beruht, haben wir nicht untersucht“. Er fand also keine Zunahme wie BORGER, der im Infarkt Werte von p_H 7,0—8,4 feststellen konnte. KOLLER und LEUTHARDT haben dann nachgewiesen — von BAYERLE und BORGER für den Infarkt bestätigt —, daß die Alkalität auf Carbonat-Bicarbonatpufferung beruht, offenbar durch Eindringen von Flüssigkeit aus dem umgebenden Gewebe. BAYERLE und BORGER fanden die Rinde, den Rand eines 48 Stunden

alten Infarktes deutlich alkalischer, als die Markzone, die aber auch alkalisch reagierte, alkalischer als der Kontrollnormalwert. Eine anfänglich auftretende Autolyse mußte also gehemmt worden sein, wie im übrigen auch aus Bestimmungen des Ammoniak- und Milchsäuregehaltes im Infarkt hervorgeht (BORGER, BAYERLE, MAYER und PETERS). Denn das spätere Absinken nach anfänglicher Steigerung beweist die Hemmung der ursprünglich einsetzenden Autolyse. KOLLER und LEUTHARDT haben auch gezeigt, daß die p_H -Bestimmung im strömenden Wasserstoff bei Extrakten aus Nekrosen auch nach längerer Zeit kein konstantes Potential ergibt, sondern sich ständig nach der alkalischen Seite hin verschiebt; es ist dies für Carbonat-Bicarbonat gepufferte Lösungen charakteristisch, da durch den Wasserstoffstrom die freie CO_2 entfernt wird. Sie wiesen auch darauf hin, daß alle Methoden, die Acidität im intakten Gewebe zu bestimmen, zu Resultaten führen, die nicht mit den an reinen Lösungen gefundenen Werten verglichen werden dürfen. Trotzdem hat zur möglichsten Verfolgung der wechselnden und sich zeitlich ändernden p_H -Verhältnisse im nekrotischen Gewebe E. BITTER auf meine Veranlassung hin weitere Untersuchungen über die Alkalität des Infarktes und Implantates angestellt. Die Methode bestand im Aufbringen eines eben auftauenden nativen Gewebsgefrierschnittes auf einen in dünner Schicht am Objektträger angetrockneten Universalindicator (A, acid, nach DUPSKY, Firma Schuchardt, Görlitz), wobei der Farbumschlag eine Schätzung der Reaktion der das Gewebe durchtränkenden Flüssigkeit erlaubt. Hierbei ergab sich, daß schon kurze Zeit nach Unterbrechung der Zirkulation das Zentrum des abgestorbenen Gewebes saure Reaktion zeigt und offenbar in Autolyse begriffen ist. Das Randgebiet reagiert dagegen früh alkalisch. Mit fortschreitender Zeit tritt ein Fortschreiten der alkalischen Reaktion zum Zentrum hin auf und schon zwischen 36 und 72 Stunden ist auch das Zentrum alkalisch, so daß offenbar dann auch hier die Autolyse gehemmt ist. Zwischen Zentrum und Randzone besteht also keine scharfe Grenze. Es findet eine mit der Zeit von außen nach innen fortschreitende Alkalisierung statt.

Kurz zusammengefaßt: Im toten Gewebe außerhalb des Körpers wird die Reaktion schnell sauer und stellt sich auf p_H 6—6,5 ein. Bleibt totes Gewebe im lebenden Körper, so tritt anfänglich eine Ansäuerung auf, die aber von außen nach innen fortschreitend in alkalische Reaktion umschlägt, bis schließlich (zeitlich abhängig von der Größe des toten Gewebsbezirkes) auch das Zentrum alkalisch ist und schwankende Werte von p_H 7,0—8,4 aufweist. Für Tryptase liegt nun das Optimum der Wirksamkeit bei p_H 8, für Zoopapainase (Kathepsin) bei p_H 5 (bzw. im isoelektrischen Punkt des Eiweißkörpers). Beim

toten Gewebe außerhalb des Körpers wird also vorwiegend Kathepsin wirksam und Tryptase gehemmt sein, während im lebenden Körper nach anfänglicher Wirksamkeit der Kathepsine bald ihre Hemmung eintreten muß und nur mehr Tryptase wirksam ist.

Die Alkalität ist im übrigen nicht nur insofern von Bedeutung, als durch sie eine Aktivierung der tryptischen Fermente erfolgt, sondern durch Alkalisierung kommt es auch zu einer Quellung des Eiweißes, zur Auflockerung des ganzen Gefüges, und damit wird die Möglichkeit für Einstürmen von Flüssigkeit erhöht. Wenn man also von einer „Auslaugung“ spricht, dann darf man wohl weniger an eine rein chemische Auflösung der Kernsubstanz denken, als an den fördernden Einfluß, den die Quellung der Eiweißkörper auf die Diffusion und Durchströmung mit Flüssigkeit ausübt und an die Schaffung einer optimalen Reaktion für die Verdauung durch Tryptase.

Die bekannten, wechselnden Befunde, Fehlen oder Vorhandensein von Kernschwund im toten Gewebe, bei Autolyse, Infarkten, Implantaten und Explantaten sind nun ein indirekter Beweis für die Richtigkeit der Hypothese, daß *der Kernschwund durch Proteinasen hervorgerufen* wird. Denn so können wir uns die allmähliche Zerstörung der Kerne durch Kathepsine bei der postmortalen aseptischen Autolyse erklären, bei der bakteriellen Fäulnis dagegen werden auch noch die Proteinase der Bakterien an der Kernauflösung fördernd weiterwirken — eine Erklärung auch für den oft rascher einsetzenden Kernschwund bei Leichen von an manchen Infektionen Verstorbenen. Bei Nekrose, bei Infarkten und Implantaten (und Explantaten je nach dem Kulturmedium) sind die Verhältnisse komplizierter, hier sind Zentrum und Randgebiet zu unterscheiden. Größe des toten Gewebes, Widerstandsfähigkeit des Gewebes, d. h. Zeit bis zum Gewebstod, spielen eine ohne weiteres erkennbare Rolle neben anderen, die später noch erwähnt werden sollen. Im Randgebiet allerdings liegen die Verhältnisse im allgemeinen ziemlich eindeutig: hier wird ja sehr bald alkalische Reaktion einsetzen und damit dann sehr schnell Autolyse und Kathepsinwirkung gestoppt, dafür wird die eindringende Tryptase des Plasmas und der Lymphe wirksam. Bei kleinen Nekrosen wird bald auch das Zentrum von außen durchtränkt und die eindringende Tryptase führt zur gleichmäßigen Kernlosigkeit des ganzen nekrotischen Bezirkes. Bei größeren Nekrosen dagegen wird es zunächst schon länger dauern, bis die Reaktion ins Alkalische umschlägt und die Autolyse aufhört. So kann Kernschwund durch Kathepsine zum mindesten eingeleitet werden, gegebenenfalls kann sogar autolytische Erweichung mit völligem Kernschwund sich einstellen. Meist aber wird es so sein, daß zwar die Carbonat-Bicarbonatpufferung bis zum Zentrum vordringt, nicht aber die kolloidale Tryptase, dann ist im Zentrum

die Autolyse (Kathepsinwirkung) abgestoppt, Tryptase nicht vorhanden und die Kerne sind mehr oder minder gut färbbar. Auch bei solchen Deutungsversuchen bleiben noch Unstimmigkeiten zwischen Befunden und angenommener Fermentwirkung, die noch der Klärung bedürfen. Zum Teil haben Versuche über Einwirkung von Fermenten und Pufferlösungen auf native Gewebsschnitte solche Erklärungs-möglichkeiten gegeben. Sie bilden auch die Hauptstütze der Hypothese über Fermentwirkung beim Kernschwund. Der Unterschied im Verhalten der Kerne von mit Proteinaseen behandelten Gewebsschnitten gegenüber Schnitten, die nur mit alkalischen Pufferlösungen „ausgelaugt“ werden, kann nur dadurch zustandekommen, daß die Kerne von den Enzymen „verdaut“ werden (G. MERKLE). In den Pufferlösungen verlieren nämlich nur die Parenchymzellen (auch nicht alle z. B. in den Nieren) die Kerne, Bindegewebe und Endothelien zeigen lange Zeit erhaltene Kerne. Bei Proteinaseeinwirkung werden dagegen alle Zellen gleichmäßig kernlos, eben durch Kerneiweißspaltung. Im ersten Falle dagegen werden eben nur die Zellkerne zerstört, bei denen die Zellen schon intravital selbst reichlich Fermente enthalten, also vor allem die Parenchymzellen. Unter diesen verlieren besonders diejenigen am raschesten die Färbbarkeit, bei denen sich auch durch fermentchemische Methoden der stärkste Proteinasegehalt nachweisen läßt, z. B. die Leberzellen. Vor allem aus den Untersuchungen von MANSTEIN und ARNHOLDT ergab sich für die postmortale Autolyse in Pufferlösungen, daß neben dem verschiedenartigen stofflichen Aufbau der Zellen, neben der p_H -Konzentration vor allem der Fermentgehalt der Zellen für den Kernabbau eine Rolle spielt. Andere Versuche zeigten auch noch den Einfluß intravitaler Zellveränderungen und postmortaler Zustandsänderungen auf die Förderung oder Hemmung der Kernauflösung. Intravitale Gerinnung (Koagulationsnekrose) des Zellprotoplasmas hemmt den Kernschwund durch Fermente (MOENIGHOFF, MOEGEN), wahrscheinlich weil das Eindringen des Fermentes wegen der größeren Dichte des geronnenen und denaturierten Eiweißes verzögert ist. Ganz ähnlich wirkt sich auch postmortale Gerinnung aus; so sind z. B. die von vielen Autoren beobachteten Hemmungen des Kernschwundes bei gekochtem (SCHÜRMANN, TERBRÜGGEN u. a.) oder verätzten Gewebe (Moos) zu erklären. Eine andere Ursache für die Hemmung der fermentativen Karyolyse ist auch in der intravital oder postmortal bedingten Ansäuerung des Gewebes zu suchen. Natürlich kommen nur geringe Grade von Ansäuerung in Frage, denn stärkere würden ja eine Gerinnung bewirken. Man muß wohl annehmen, daß solche geringe Aciditätsverschiebungen (p_H 6—7) zwar noch keine Gerinnung, aber doch eine — vielleicht zur Gerinnung und Denaturierung überleitende — Änderung des

Zelleiweißes hervorbringen. Bringt man z. B. Gewebsschnitte vor der Fermenteinwirkung in schwach saure Pufferlösung, so wird im darauffolgenden Versuch der Kernschwund gehemmt, kommt aber das Ferment bei gleicher Acidität, zusammen mit der Pufferlösung zur Wirkung, so erfolgt keine Hemmung; die vorherige Ansäuerung wirkt also offenbar dadurch, daß das Eindringen des Fermentes behindert wird. Auch intravitale Momente können von Einfluß sein. Erstickungstod mit Muskelkrämpfen hemmt (offenbar durch die stärkere postmortale Säurebildung) den Kernschwund. Durch Narkose vor dem Tod wird dieser hemmende Einfluß ausgeschaltet (GROLL). Am deutlichsten zeigt sich dies an der quergestreiften Muskulatur. Gerade auch beim Herzmuskel wird bei Explantatversuchen das verhältnismäßig gute Erhaltenbleiben der Kerne beschrieben (PETER) — wohl die Wirkung der starken postmortalen Säuerung des immer tätigen Herzmuskels [Allerdings gibt es ausnahmsweise auch „alkalische Totenstarre“ (WERKER, GRIFF).] Ferner zeigt kadaverös getrübbtes Parenchym (Ansäuerung durch beginnende Autolyse) verzögernde Karyolyse gegenüber normalem Gewebe bei Proteinaseeinwirkung (MÖNNIGHOF, GROLL) und andererseits sind beim kadaverösen alkalischen Infarkt (ehe Gerinnung erfolgt) die Kerne ebenso leicht verdaulich und auflösbar, wie bei normalem Gewebe, offenbar weil hier wegen der Alkalität keine autolytische kadaveröse Ansäuerung erfolgen kann (GROLL).

Gegen die Hypothese der Proteinaseinwirkung als Ursache des Kernschwundes scheinen aber die Befunde LIBBERTS zu sprechen: Blutfreier Organextrakt — der doch Fermente enthalten muß — erzeugt bei Explantation keine entkernte Randzone (ebenso wenig wie SCHÜRMANN'S Embryonalextrakt). Man könnte daran denken, daß eben hier die Zellen lebend bleiben. LIBBERT hat aber seine Preßsäfte mit Tyrodelösung hergestellt, also mit alkalischer Flüssigkeit gearbeitet. Dadurch kann schon die Extraktion der Proteasen behindert worden sein (nach BORGER ist die Ausbeute an diesen Enzymen bei p_H 7,8 aus Leukocyten fast 0). Weiter kann auch die Kathepsinwirkung im Alkalischen gehemmt sein. Ich habe mit blutfreiem Leberextrakt die LIBBERTSchen Versuche nachprüfen lassen und bestätigen können (THOMSER). Bei Anwendung einer sauren Pufferlösung (p_H 6,5) trat aber eine entkernte Randzone auf — es wurden also die Proteinasen extrahiert und aktiviert —, so daß sie in der Randzone wirksam werden konnten.

Ein weiterer Einwand: BORGER und MAYER haben nachgewiesen, daß im abgestorbenen nekrotischen Infarktgewebe eine starke Herabsetzung der proteolytischen Wirksamkeit vorhanden ist. Die Abnahme kann entweder auf einer Zerstörung der Enzyme beruhen oder auf einer Hemmung durch irgendwelche, im Verlauf der Infarktbildung

neu geschaffene Umstände. Die Abnahme und das schließliche Fehlen des reduzierten Glutathions (BORGER, PETERS und KURZ) ist jedenfalls nicht etwa die alleinige Ursache für die Herabsetzung der Proteolyse. BORGER sieht in dieser Herabsetzung eine zweckmäßige Erscheinung, durch die eine rasche, schädigende Resorption autolytisch entstehender Abbauprodukte verhindert wird. Widerspricht nun diese Verminderung der proteolytischen Wirksamkeit im Infarkt nicht der Annahme einer Proteinasewirkung als Ursache des Kernschwundes? Wäre der Infarkt als „nekrotisches“ Gewebe im WEIGERTSchen Sinn wirklich vollständig kernlos, dann wäre das Aufhören der proteolytischen Wirksamkeit im Infarkt mit der Hypothese des Kernschwundes durch Proteinasen nicht vereinbar. Aber im nekrotischen Infarkt sind ja oft noch lange Kerne vorhanden, wie jeder aus Erfahrung weiß [vgl. auch die Angabe LETTERERS über gut erhaltene noch lebende (?) Zellen im Implantat von 21 Tagen]. Soweit die Kerne fehlen oder schlecht erhalten sind, kann dieser Kernschwund eben schon in der ersten Zeit nach dem Absterben des Gewebes entstanden sein, solange noch bei entsprechenden p_H Proteinasen vorhanden und wirksam sind. Der Kernschwund der Randzone kann durch Eindringen der Serumproteinasen erklärt werden (Heterolyse), ebenso wie späte allmähliche Entkernung im Zentrum. Die Herabsetzung der Proteolyse im Infarkt ist also mit unserer Hypothese gut vereinbar, sie erklärt sogar, warum die Kerne im Zentrum des Infarktes (unter Mitwirkung anderer Faktoren) lange erhalten bleiben können.

Unsere zweite Frage nach den eigentlichen Ursachen des Kernschwundes bei der Nekrose beantworte ich also dahin, daß mit großer Wahrscheinlichkeit die Auflösung der Kerne durch proteolytische intracelluläre und humorale Fermente erfolgt. Dabei können zeitliche, quantitative und qualitative Unterschiede im Ablauf der Karyolyse bedingt sein durch vielerlei Faktoren wie z. B. durch verschieden langes Überleben der Zellen, durch wechselnden Fermentgehalt und verschiedenartige stoffliche Zusammensetzung der Zellen selbst, durch intravitale Zellveränderungen und durch postmortale Zustandsveränderungen, insbesondere auch durch die äußerst wichtige aktuelle Wasserstoffionenkonzentration.

Die Beantwortung der dritten Frage, nämlich ob die Ursachen des Kernschwundes auf vollständig gesunde, auf geschädigte oder nur auf tote Zellen wirken, ist in gewissem Sinn identisch mit der Frage nach der Giftigkeit der Proteinasen, identisch auch mit der Frage nach der Resistenz von lebendem Eiweiß und von Zellen und Gewebe mit intakten Strukturen gegen Proteinasen, wenn wir als Hauptursache für den Kernschwund eine Proteolyse anerkennen. Nach OPPENHEIMER haben die lebende Zelle, mehr aber noch ganze Gewebe oder Organe

einen besonderen Schutz gegen enzymatischen Angriff in der Struktur ihrer Oberfläche. Die Herabsetzung der vitalen Resistenz ist der wichtigste Faktor, die Zelle gegenüber dem Ferment wehrlos zu machen. NORTHROP glaubt, daß die aus Eiweiß-Lipoidsymplexen gebildete Grenzschiicht resistent gegen das Eindringen der Fermente sei. Andererseits können durch Proteinase — z. B. aktiviertes Trypsin (Pankreasnekrose!) und Papain — schwere Vergiftungserscheinungen auftreten, wenn auch umstritten ist, ob hierfür die Fermente an sich oder nur Giftwirkungen der Eiweißabbauprodukte in Frage kommen. Solche Schädigungen durch Eiweißspaltprodukte, aber auch direkte Einwirkung auf Gewebszellen hat bei Versuchen mit subcutaner Fermentinjektion BAUM angenommen im Gegensatz zu früheren Autoren (KIRCHHEIM, BOERNER, PATZELT), die an eine primäre Gefäßwirkung mit sekundären Gewebsschädigungen dachten. Bei solchen subcutanen Injektionen kann ja allein die Injektion durch Änderung des Gewebsdruckes, Gefäßsperrre oder mangelnde O₂-Versorgung zur Zellschädigung und damit zur Angriffsmöglichkeit für die Enzyme führen. SCHMITT-BRÜCKEN hat jüngst bei Nachprüfung der Mitteilung von RID und DUFF, sie hätten durch Trypsin Arteriosklerose erzeugt, in ähnlicher Weise wie BAUM Entzündung, Nekrose und Gewebsauflösung im Gewebe und an den Gefäßen durch Proteinaseinjektionen hervorrufen können. Daß andererseits die natürliche Resistenz des lebenden und überlebenden Gewebes gegenüber Fermenten sehr hoch sein kann, zeigte SCHANZ durch intraarterielle Injektion von Chymase, Trypsin und Papain. Es ergaben sich keine Gewebsveränderungen, und SCHANZ sieht die Erklärung hierfür in irgendeiner Hemmung der Fermentwirkung innerhalb der Gefäßbahn oder in der Unangreifbarkeit und Unpassierbarkeit der Endothelschranke. HADLICH untermauerte dies Ergebnis durch supravitale und postmortale arterielle Fermentinjektionen — hierbei konnte die Enzymwirkung nicht durch Blut oder Serum gehemmt werden —, wobei die Nierengefäßendothelien nicht durchlässig oder geschädigt wurden. Erst bei vorheriger Endothelschädigung konnte die Gefäßendothelschranke durchbrochen werden und das Gewebe zeigte Andauungserscheinungen. Andererseits fanden schon BATELLI und STERN bei lebenden Zellen eine Herabsetzung der O₂-Atmung und eigene Versuche im WARBURG-Apparat bestätigten diese Beobachtung auch für Papain. Weiterhin gelingt es durch intravenöse Injektion hochkonzentrierter (1—5 %) aktivierter Trypsin- und Papainlösungen, die Endothelschranke zu durchbrechen und eine „Dysorie“ hervorzurufen, die in den Lungen eine seröse plasmatische oder hämorrhagische Infarzierung hervorruft (ZEINER). Aber solche Konzentrationen kommen ja unter pathologischen oder physiologischen Bedingungen nicht in Frage (Ausnahme akute

Pankreasnekrose?). Wir dürfen also wohl annehmen, daß die in den Körpersäften vorkommenden Proteinaseen nicht in der Lage sind, lebende ungeschädigte Zellen anzugreifen, sondern daß ihnen gegenüber die bekannte natürliche Resistenz des lebenden Gewebes gegeben ist. In Übereinstimmung mit dieser Anschauung stehen vor allem die Untersuchungen GUILLERYs und seiner Mitarbeiter. Er kommt zum Schluß, es seien die als dysorische Schädigungen gedeuteten Veränderungen an Transplantat, Explantat und Infarkt die Folge von Abbauvorgängen an totem Gewebe, das infolge anoxämischer Schädigung abgestorben ist. GUILLERY lehnt also hiermit jede schädigende Wirkung des ausgetretenen Plasmas oder Serums auf gesunde lebende Zellen ab. Dann können natürlich auch die im Serum enthaltenen Proteinaseen lebende Zellen nicht schädigen. Gewiß stimmen seine überzeugenden Versuche über den lebenserhaltenden Einfluß von Blut und Gewebssäften sehr gut mit dem überein, was wir über die Hemmung der Proteolyse im Blut und über die vitale Resistenz der Zellen gegenüber Proteinaseen wissen. Aber gilt das nicht nur für völlig gesunde lebende Zellen? Wir sehen ja auch, daß die intravenös unschädlichen Fermentkonzentrationen bei subcutaner Injektion Entzündung hervorrufen, offenbar weil durch die Setzung eines „Extravasates“ doch geringe Zellschädigungen entstehen und so die Fermente angreifen können. Wirkt vielleicht das Serum (durch seine Proteinaseen) doch schädigend, wenn die vitale Resistenz der Zellen herabgesetzt ist, aber noch keineswegs totes Gewebe vorliegt? Gilt in solchen Fällen nicht etwa doch ROESSLES Annahme, daß bei beginnender Schädigung nur solche Zellen überleben, die von vornherein eine vermehrte Resistenz hatten, während die anderen etwas geschädigten „normalen“ Zellen unter dem Einfluß extravasierten Serums durch Summation der Reize stärker leiden und der Nekrobiose, der allmählichen Nekrose vorfallen? Wissen wir doch z. B. gerade von Geschwulstzellen (BORSTS Kleinzellen, HÖRNER, RÖSSLE), daß sie besonders resistent sein können. Dann wissen wir aus der Lehre von den Degenerationen, daß Zellschädigungen einerseits reversibel sein, andererseits fortschreitend zur Nekrobiose und Nekrose führen können. So müssen wir zugeben, daß einmal geschädigte Zellen durch die im Serum enthaltenen Fermente weiter geschädigt, abgetötet und schließlich „abgebaut“ werden können. Wir müssen dann nur die Lehre SCHÜRMANNs dahin modifizieren, daß infolge der Durchlässigkeit der Gefäßwände durch den Flüssigkeitsaustritt verschiedene Störungen im Zellstoffwechsel auftreten können. Nicht nur Anoxämie kommt in Frage, auch die sonstige „Ernährung“ der Zelle kann gestört sein. Änderungen der Oberflächenspannung, des elektrischen Potentials, der Wasserstoffionenkonzentration können die „vitale Resistenz“ der Zelle herabsetzen und sie angreifbar machen für die aktivierten Enzyme

in ihr selbst und in dem an sie herantretenden Serum. Die anschließenden Abbauvorgänge können dann in der lebenden oder geschädigten Zelle zur Nekrobiose, Nekrose und zum Kernschwund führen.

So werden wir *unseren Standpunkt zur dritten Frage* dahin festlegen, daß die völlig gesunde, mit ihrer natürlichen Resistenz gegen Enzyme ausgestattete Zelle unempfindlich gegenüber den Ursachen des Kernschwundes zu sein scheint. Bei Zellschädigungen irgendwelcher Art, bei Herabsetzung der vitalen Resistenz können dagegen die intracellulären und humoralen proteolytischen Fermente, also die Hauptursache des Kernschwundes, ebenso wie bei toten Zellen zur Wirkung gelangen.

Über die Bedeutung und Entstehung der Kernschwundes bei der Nekrose können wir also feststellen: Der Kernschwund ist dann ein Kardinalsymptom der Nekrose, wenn kadaveröse Vorgänge ausgeschlossen werden können. Auch bei erhaltener Kernfärbung kann Nekrose vorliegen, so daß also aus dem Erhaltensein des Kerns nicht etwa auf Lebensfähigkeit der Zelle geschlossen werden darf. Das morphologische Bild der Nekrose ist jeweils wechselnd, da es immer nur einen Ausschnitt des langsam aber fortschreitend ablaufenden Geschehens festhält. Die Auflösung der Chromatinsubstanzen erfolgt sehr wahrscheinlich durch proteolytische intracelluläre und humorale Fermente, durch Autolyse und Heterolyse. Zeitliche, quantitative und qualitative Unterschiede im Ablauf des Kernschwundes können bedingt sein durch verschieden langes Überleben der Zelle, durch wechselnden Fermentgehalt und verschiedenartige stoffliche Zusammensetzung der Zelle, durch intravitale Zellveränderungen und durch postmortale Zustandsänderungen, insbesondere auch durch die äußerst wichtige jeweilige Wasserstoffionenkonzentration. Die gesunde Zelle ist gegenüber der Einwirkung proteolytischer Fermente in physiologischer Konzentration resistent. Geschädigte Zellen unterliegen aber offenbar ebenso wie das tote Gewebe der „Verdauung“ durch Proteinasen, so daß schließlich Kernschwund auftritt.

II. Protoplasmagerinnung bei der Koagulationsnekrose.

Wenn auch WEIGERT ausgehend vom makroskopischen Aussehen des nekrotischen Bezirkes (Fibrinkeils) die Koagulationsnekrose mit der Fibringerinnung in Parallele gesetzt hat, so hob er doch hervor, daß sie mit ihr nicht identisch sei. Im nekrotischen Gebiet findet man zwar Fibrin in wechselnder Menge, aber seine Ausbreitung ist nicht in Übereinstimmung zu bringen mit der Ausdehnung des geronnenen nekrotischen Bezirkes, und so mußte WEIGERT den Schluß ziehen, es sei auch das Zellprotoplasma geronnen. Die Plasmadurchströmung sollte sowohl Kernschwund wie auch Gerinnung hervorrufen.

ISRAEL fand nur nach temporärem Verschuß der Nierenarterie die abgestorbenen Epithelien mit einem Fasernetz verfilzt, wie in Diphtheriemembranen, aber in den Zellen selbst nirgends Gerinnsel; eine Gerinnung der Zelle sei nicht erkennbar und nicht erwiesen, Fibrinausscheidung und -gerinnung hätten mit der Zelle nichts zu tun. Auch nach ARNHEIM wirkt plasmatische Flüssigkeit nicht gerinnend auf das Zellplasma, sondern eher lösend (Kernschwund). Demgegenüber schließen SCHMAUSS und ALBRECHT aus der Anwesenheit einer körnigen netzartigen Struktur in den Nierenzellen auf einen echten Gerinnungsvorgang, d. h. Bildung eines in Wasser, Neutralsalzen, verdünnten Säuren und Alkalien unlöslichen Körpers in den Zellen selbst. Moos erkennt allerdings diese Beweisführung nicht an, „da aus dem Auftreten einer feinfädigen und körnigen Struktur an Stelle der dem im frischen Zustand untersuchten Organ zukommenden kein Schluß auf eine vorsichgegangene Gerinnung gezogen werden kann oder auf irgendeine andere chemische oder physikalische Veränderung“; seine übrigen Einwände gegen die WEIGERTSche Lehre — Intensität und Extensität der Durchströmung, makroskopische Befunde, wie weiche Konsistenz des Zentrums, Unterschiede bei Verdauung und Implantation von Gewebe und Fibrin sind heute auch anders deutbar und nicht mehr Beweise gegen eine Koagulation. Vor allem aber ist die ablehnende Haltung von Moos bedingt durch seine Unterscheidung verschiedener Arten „des Übergangs flüssiger gelöster Eiweißkörper in den festen Zustand“. Er unterscheidet: 1. Ausfällung oder Präcipitierung durch Aussalzen oder Ansäuern ohne Löslichkeitsänderung. 2. Gerinnung nur von Fibrin, Casein und Myosin (Totenstarre), unter bestimmten Umständen leicht löslich. 3. Koagulation oder Denaturierung eines natürlichen, präcipitierten oder geronnenen Eiweißkörpers durch Hitze, Alkohol oder bestimmte Metallsalze usw. Eine solche Koagulation oder Denaturierung bei der Nekrose lehnt er ab, wenn er auch andererseits eine „Gerinnung“ im Sinn einer „Nierenstarre“ für möglich, aber unbewiesen und unwahrscheinlich hält. ERNST glaubt nun auf Grund dieser und der übrigen Kritiken, daß „eine Koagulation im Sinne der Kolloidchemie, etwa gleichbedeutend mit Fällung, Erstarrung, Präcipitation, Gelation, Gelbildung, Gerinnung, Ausflockung, Niederschlag, Umwandlung des Hydrosols in Hydrogel in Frage kommt“, „eine Verringerung des Dispersitätsgrades der dispersen Phase unter Aufgeben der Homogenität der räumlichen Verteilung (OSTWALD)“. Ähnlich schreibt HUECK: „Wenn wir die Nekrose als Koagulation bezeichnen, so wollen wir damit ausdrücken, daß auch bei ihr — wie bei der Fibringerinnung — die im Solzustand befindlichen Stoffe, in erster Linie also wohl die Eiweißkörper, in den festen Gelzustand übergehen. Dabei können sie auch noch vom Blutfaserstoff durchtränkt

werden.“ SCHÜRMANN endlich bezeichnet die Koagulation bei der Infarktbildung als Denaturierung: 1. Es treten dabei zunächst Denaturierungserscheinungen am Protoplasma der Parenchymzellen, alsdann ein Kernschwund auf. Die Denaturierung des Zellprotoplasmas faßt er als reine Flüssigkeitswirkung auf (im Gegensatz zur Entkernung durch spezifische Serumwirkung). Die meisten Autoren der neueren Zeit gehen auf die eigentliche Ursache der Protoplasmagerinnung nicht ein; sie nehmen im allgemeinen auch nur auf Grund des morphologischen Bildes eine Gerinnung an — ohne ihr Vorliegen wirklich zu beweisen. Wenn aber z. B. R. MÜLLER schreibt, „während es SCHNAPPAUF noch Schwierigkeiten bereitete, die Entstehung der Koagulationsnekrose im Randgebiet des Infarktes zu erklären, ist dies nach den Untersuchungen von ORSOS, SCHÜRMANN und DOLJANSKI, LETTERER, ROESSLE, SCHÄFER, TERBRÜGGEN leichter möglich“, so dürfte dieser Ansicht nur mit Einschränkungen zuzustimmen sein. Denn wenn ORSOS in der Gerinnungsnekrose „eine vitale Reaktion schlechthin“ sieht, so ist das ja auch keine Erklärung und wenn R. MÜLLER weiter ausführt, daß die übrigen Untersucher dem Eintritt von Blutflüssigkeit in die Parenchymzelle eine entscheidende Rolle beimessen, so ist damit ja noch keine Erklärung gegeben, inwiefern denn die Blutflüssigkeit nun die Koagulationsnekrose bewirkt. TERBRÜGGEN nimmt ähnlich wie SCHÜRMANN bei Serumwirkung auf Parenchymzellen zwei aufeinanderfolgende Vorgänge an, „denen auch vielleicht zwei verschiedene ursächlich wirksame thermolabile Körper des Serums zugrundeliegen. Die Koagulationsnekrose könnte unter dem Einfluß von Stoffen entstehen, die intracelluläre Fermente aktivieren können, aber durch Erwärmung und Berührung mit der Luft oxydiert und unwirksam gemacht werden (wie etwa Sulfhydrylkörper)“. Wenn schließlich oft nur von Serumwirkung durch nicht näher bestimmbare Stoffe oder fermentartige Wirkungen gesprochen wird, so versteht man, daß B. MAYR die Existenz von „Koagulasen“ bezweifelt und in berechtigter Kritik die Forderung aufstellt: „Die enzymatische Natur des Koagulationsprozesses darf nur dann angenommen werden, wenn ein Versuch *in vitro* diese Deutung zuläßt.“ Sie hält für möglich, daß die Eiweißgerinnung bei der Koagulationsnekrose „durch chemisch-physikalische Zustandsänderungen des Substrates auch ohne Fermenteinwirkung erfolgen könne.“ Ich selbst habe zu dieser Frage zuletzt in der Festschrift für BORSTS 70. Geburtstag Stellung genommen und kam zum Schluß, daß auch bei intravitalen Gerinnungsvorgängen neben chemisch-physikalischen Zustandsänderungen des Substrates wahrscheinlich doch Enzyme (Proteinasen, Parachymosine) mitwirken können. Diese Ansicht gründet sich darauf, daß wir schon bei unseren ersten Versuchen über die Einwirkung von Fermenten

auf native Gewebsschnitte (MERKLE) durch Papain eine „Verdauungsgerinnung“ dem morphologischen Bild nach erhalten konnten — allerdings bei p_H 5, so daß diese Gerinnung natürlich für Vorgänge im Organismus nicht in Frage kam. In weiteren Versuchen gelang es SCHANZ durch Labferment bei p_H 6—6,5 ebenfalls Eiweißausfällungen im Protoplasma zu erzielen, die aber offenbar reversibel waren; denn im später fixierten Gewebe waren sie nicht erkennbar. COQUI konnte weiterhin durch Trypsin mit Labwirkung (Firma Witte) nach Calciumzusatz auch bei p_H 7 und 8 (Glykokollpuffer), ohne Calcium nur bei p_H 5 und 6 irreversible Eiweißfällungen erhalten, die immerhin eine gewisse Ähnlichkeit mit dem morphologischen Bild der Koagulationsnekrose boten. Warum sollten also nicht auch bei der Koagulationsnekrose proteolytische Fermente mit labender Wirkung (Parachymosine Bang) bei der Gerinnung wirksam sein? Es muß aussichtsreich sein, eine solche Arbeitshypothese durch weitere Versuche nachzuprüfen.

Vorher sei aber noch zu der seit den Versuchen von Moos immer noch etwas umstrittene Frage Stellung genommen, ob bei der Koagulationsnekrose auch wirklich eine Gerinnung des Zellprotoplasmas vorliegt. Die Unterscheidung von Präcipitation, Gerinnung und Koagulation oder Denaturierung im Sinne von Moos ist heute nicht mehr haltbar. Bei all diesen Vorgängen des Festwerdens von Kolloiden handelt es sich im Prinzip immer um eine Verringerung des Dispersitätsgrades der dispersen Phase unter Aufgabe der Homogenität der räumlichen Verteilung (OSTWALD). Es gilt dies bei allen Ausflockungen und Fällungen (auch das ausgeflockte Eiweiß ist im Gelzustand und zeigt „Formelastizität“, das Hauptmerkmal des Gels), bei allen Gelen und Gallerten, bei der Koagulation und Denaturierung von Eiweißkörpern. So schreibt ETTICH: „Beim Gelierungsvorgang gelangen gewisse Teilchen, die vorher außerhalb der gegenseitigen Anziehungssphäre gelegen haben, nunmehr in dieses Gebiet. Mit anderen Worten, es wird sich der Vorgang der Teilchenvergrößerung einstellen, so etwa wie er sich bei der Koagulation zeigt.“ In der Tat hat sich bei einer großen Zahl von Systemen die Sol-Gelumwandlung experimentell als mit der Koagulation, der langsamen zumeist, übereinstimmend gezeigt. „Ob nun eine echte Koagulation vorliegt oder ob nur eine Polymerisation von Teilchen in relativ engen Grenzen neben noch weiteren Vorgängen im Dispersionsmittel in Betracht kommt, scheint nicht geeignet als grundsätzlicher Unterschied angesehen zu werden.“ Ob nur Ausflockung oder Erstarrung in Masse erfolgt, dafür ist besonders auch die Konzentration des Kolloides maßgebend; die Art der Ausfällungsursache entscheidet vor allem auch darüber, ob das Endprodukt löslich oder unlöslich und dann oft auch denaturiert ist. Zur

Beurteilung des Koagulates ist also auch die „Vorgeschichte“ wichtig, zumal da der Gerinnungsvorgang nicht plötzlich, sondern meist langsam abläuft und „Alterungsvorgänge“ vor und nach der Koagulation Änderungen hervorrufen können, wovon unter Umständen Löslichkeit oder Unlöslichkeit und vielleicht Denaturierung abhängt. Ob bei Unlöslichkeit des Endproduktes auch Denaturierung vorliegt, kann bestritten werden; denn „was eigentlich unter Denaturierung zu verstehen ist, wissen wir nicht genau“ (OPPENHEIMER). HAUROWITZ deutet die Denaturierung als eine Sprengung von Brückenverbindungen des nativen Eiweißmoleküls, nach WU wird bei der Denaturierung die kompakte Struktur des Eiweißmoleküls zerstört und aufgefasert. Auch WÖHLISCH hält das Wesen der Denaturierung noch weitgehend ungeklärt, so daß nicht einmal darüber Einigkeit besteht, ob dieser Vorgang auf einer Hydrolyse des Proteins beruht oder nicht. WÖHLISCH und FISCHER sehen übrigens auch die Umwandlung des Fibrinogens in Fibrin als Denaturierungsvorgang an und WÖHLISCH bezeichnet die Thrombase als Denaturase und hält die Ansicht von WALDSCHMIDT-LEITZ, daß die Thrombase eine echte Proteinase sei, für fraglich. OPPENHEIMER aber glaubt, daß beide recht haben: „Denn es ist durchaus wahrscheinlich, daß eben die Denaturierung bereits ein im kleinsten Ausmaß vor sich gehender hydrolytischer Prozeß an irgendwelchen Bindungen ist, eben jenen uns noch unbekannten Bindungen, die das „genuine“ Eiweiß gegenüber dem so viel leichter proteolytisch angreifbaren denaturierten kennzeichnen, während ganz selbstverständlich eine energische Proteolysewirkung zu weiterem Abbau und zum Zufall des Fibrogens führen muß, womit seine Gerinnungsfähigkeit als Denaturierungserscheinung erlischt.“

Kommen wir unter diesen verschiedenen Gesichtspunkten wieder auf die Frage nach der Gerinnung bei Koagulationsnekrose zurück, so werden wir das Vorliegen der Gerinnung anerkennen, da ja im Protoplasma — wie dies schon SCHMAUSS und ALBRECHT nachwiesen — eine unlösliche Ausfällung vorliegt. Der hingegen von Moos vorgebrachte Einwand, es handle sich nur um Strukturänderungen des flüssigen mit Strukturen versehenen Protoplasmas unter veränderten Bedingungen kann aber auch noch durch andere Untersuchungen widerlegt werden. MOENNIGHOFF konnte zeigen, daß normale, kadaverös trübe und intravital trübgeschwollene Zellen sich in ihrem Verhalten gegen Autolyse und Verdauung mit Proteinase abgrenzen lassen gegenüber sicher nekrotischen, offenbar koagulierten Zellen. MOEGEN hat dann mit der Methode der Verdauung nativer Gewebsschnitte nicht nur bei den verschiedensten Nekrosen menschlicher Gewebe, sondern auch bei experimentell erzeugten Infarkten eine relative Resistenz nekrotischer und somit koagulierter Zellen gegenüber der Verdauung

durch Trypsin und Papain nachgewiesen. Diese Resistenz ist nicht die Folge einer Unangreifbarkeit des Substrates. Sie ist ja auch keine absolute, sondern wahrscheinlich durch die mangelhafte Quellungs-fähigkeit des koagulierten Protoplasmas bedingt. Es läßt sich daher andererseits aus der relativen Resistenz bei Verdauung auf eine Dispersitätsverringern der dispersen Phase, also auf Koagulation des Protoplasmaeiweißes schließen. Damit ist also eine Methode zur Unterscheidung von ungeronnenem und geronnenem Zellprotoplasma gegeben. Eine zweite Methode für eine solche Unterscheidung bietet die Lumineszenzmikroskopie. E. FAHR zeigte, daß geronnenes Eiweiß fluoresziert. Sowohl bei experimentellen Niereninfarkten, wie am Leichenmaterial konnte er Lumineszierung nachweisen (die allerdings eventuell besonders bei der Milz durch erhöhten Eisengehalt des Gewebes ausgelöscht werden konnte). Auch bei Implantation von Leberstückchen in die Bauchhöhle und bei Explantation im Serum entsteht entsprechend der koagulierten nekrotischen Randzone eine ebenso breite lumineszierende Zone. Da die beiden Methoden von MOEGEN und FAHR beim gleichen Gewebe übereinstimmende Resultate geben, ist es wohl sicher, daß eben sowohl die relative Resistenz gegen Proteinase, wie die Lumineszenz die Koagulation des Eiweißes anzeigen.

Wir haben also heute zunächst einmal die morphologische Methode der Beschreibung des frischen oder fixierten und also nachträglich sicher geronnenen Zellprotoplasmas als, „wie geronnen aussehend usw.“, eine Methode, die also nicht ausreicht für einen sicheren Beweis erfolgter Gerinnung. Die Methode von SCHMAUSS und ALBRECHT, am frischen Gewebe die Gerinnung durch Unlöslichkeit und mangelnde Quellungs-fähigkeit nachzuweisen, gibt zuverlässige Resultate und diese werden bestätigt durch den eventuellen Nachweis der relativen Resistenz des geronnenen Zellprotoplasmas gegenüber Autolyse und gegenüber Proteinase sowie durch lumineszenzmikroskopische Untersuchung. *Wir dürfen also feststellen, daß WEIGERT trotz aller späteren Angriffe recht hatte, wenn er eine Gerinnung des Zellprotoplasmas bei der Koagulationsnekrose annahm.*

Damit ist natürlich nicht etwa ausgeschlossen, daß das Festwerden, die Gerinnung des nekrotischen Bezirkes auch noch gleichzeitig durch diese Fibringerinnung mitbedingt wird. BAUER hat sich bei seinen Modellversuchen zur Koagulationsnekrose auch mit dieser Frage auseinandergesetzt. Er prüfte die Erzeugung einer „Randnekrose“ durch Explantation von Leberstückchen in menschlichem Oxalatplasma und fand, wie die übrigen Autoren, bei Serum und Plasma typisch kernlose, wie geronnen aussehende Randzonen. Bei Calciumchlorid-zusatz hörte bei Eintritt der Gerinnung des Plasmas jede weitere Ein-

wirkung auf das Explantat auf. Diese Einwirkungshemmung beruht aber nicht etwa nur auf Behinderung der Strömung aus dem Plasmakuchen zum Gewebsexplantat, sondern zeigt sich auch dann, wenn keine Totalgelierung, sondern nur eine Ausflockung durch Calcium erfolgt. In weiteren Versuchen konnte er dann nach der Methode von MOEGEN durch die Resistenz gegenüber Papainverdauung nachweisen, daß im Bereich der Randzone wirklich Gerinnung eingetreten war. Allerdings sei durch diesen Versuch noch nicht die Gerinnung des Protoplasmas selbst bewiesen; „es könnte ja auch sein, daß das zwischen die Zellen und sicher auch teilweise in die Zellen eingedrungene Oxalatplasma geronnen ist und so ein Vordringen des Papains zu dem noch ungeronnenen Zelleiweiß verhindert“. Versuche von THOMSEN haben aber diesen Einwand widerlegt. Bei Explantation in frischem oder inaktiviertem Serum fand sich Lumineszenz der Randzone, also Gerinnung, mangelnde Kernfärbung dagegen nur bei aktivem Serum. Also wurde durch die Hitzeinaktivierung nur die Wirkung auf die Gewebkerne gehemmt, nicht aber die zur Gerinnung führende Serumwirkung. Bei Behandlung von Leberstückchen mit Oxalatserum war dagegen bei inaktivem und aktivem Serum jede Wirkung gehemmt, sowohl die auf die Kerne, als auch die auf das Protoplasma. Auch FAHR fand bei seinen Untersuchungen bei Explantation im aktiven Serum Lumineszenz, bei Oxalatserum fehlte dagegen die Fluoreszenz und also offenbar auch die Gerinnung. Da ferner Behandlung von Gewebsstückchen mit Calciumchlorid allein schon genügt, um bei 37° Lumineszenz hervorzurufen, ist der Schluß auf die gerinnungsfördernde Wirkung des Calciums erlaubt. Auch LIMMER fand in solchen Gewebsschnitten bei 56° innerhalb weniger Minuten Auftreten von Lumineszenz, also Protoplasmagerinnung, während in physiologischer Kochsalzlösung bei dieser Temperatur noch keine Gerinnung beobachtet werden konnte, ebenso wenig wie bei niedrigeren Temperaturen mit oder ohne Calcium.

Die Versuche lassen eindeutig erkennen, daß nicht nur etwa eindringendes Fibrin in und zwischen den Zellen gerinnt, sondern daß — gefördert durch Calcium — das Protoplasma selbst zur Gerinnung kommt. Aber noch durch andere Modellversuche hat BAUER die Gerinnungsmöglichkeit der Zelleiweißkörper erhärtet. Ausgehend von der Bedeutung des Calciums bei Gerinnungsvorgängen (Fibrin, Casein) studierte er im Reagensglas an Leberpreßsäften (nach vorheriger Befreiung von Blut durch Natriumoxalatdurchspülung) Vorbedingungen und Vorgänge der Gerinnung. Der Oxalatpreßsaft gerinnt bei Zimmertemperatur und bei höherer Temperatur unter Verkürzung der Gerinnungszeit zu einer ödemfarbigen, zusammenhängenden Masse etwa von der Konsistenz des geronnenen Blutes oder Fibrins. Bei

56—58° erfolgt in gleicher Weise Hitzegerinnung auch ohne Calciumzusatz (vgl. auch TERBRÜGGEN). Höhere Calciumkonzentrationen verkürzen die Gerinnungszeit. Wegen der Förderung durch Calcium und der Hemmung durch CO und NaCl denkt BAUER daran, daß es sich bei der Gerinnung von Leberpreßsaft um ähnliche encymatische Vorgänge handeln könnte, wie bei der Blut- und Milchgerinnung. Eine Reihe von Einzelbeobachtungen bei diesen Reagensglasversuchen war nicht ohne weiteres zu erklären. Auffallenderweise konnte Nierenpreßsaft (mit einer einmaligen Ausnahme) nicht zur Gerinnung gebracht werden; war vielleicht im Leberpreßsaft die gerinnungsfähige Substanz Fibrinogen, das ja in der Leber gebildet wird? Andere Versuche aber sprechen gegen eine solche Annahme. Zunächst einmal scheinen Leberpreßsaft und Oxalatplasma aufeinander eine gegenseitige gerinnungshemmende Wirkung auszuüben, jedenfalls wirkt Zusatz von Oxalatplasma zum Leberpreßsaft nicht gerinnungsfördernd. Thrombin erzeugt keine Beschleunigung der Gerinnung des Leberpreßsaftes und trotz Hirudin erfolgt Koagulation nach Calciumzusatz. So kommt schließlich BAUER auf Grund seiner Modellversuche zu folgender Ansicht über die Gerinnungsvorgänge im Infarkt: „Das zwischen die Zellen und teilweise in die leicht zerstörten Zellen eindringende Plasma kommt dort nach einiger Zeit zur Gerinnung und bildet somit den einen Teil der Gewebsgerinnung im Infarkt. Der andere Teil kommt dadurch zustande, daß nach einer Anreicherung des Gewebes mit Calcium nun das Zelleiweiß selbst durch Fermente, die in der Zelle schon vorhanden sind, zur Totalgerinnung kommt. Diesen zweiten Gerinnungsprozeß halten wir dabei für den wichtigeren. Erst nach Eintritt dieses zweiten Gerinnungsprozesses erhalten wir das typische Bild des ausgebildeten Infarktes.“ Wenn auch durch die Modellversuche BAUERS das Verständnis für die Gerinnungsvorgänge bei der Koagulationsnekrose gefördert schien, so mußten doch namentlich für den angenommenen fermentativen Charakter des Gerinnungsvorganges noch weitere Beweise beizubringen versucht werden. CAIN konnte nun durch Natriumoxalat, Kohlenmonoxyd und Cyankali bei Leberimplantaten in die Bauchhöhle einen hemmenden Einfluß auf die Gerinnung hervorrufen; die Hemmung war allerdings keine vollständige und dauernde, sie wirkte nur bis zu 72—96 Stunden. Aber die Verschiedenartigkeit der hemmenden Substanzen spricht gegen eine rein chemisch-physiologische Wirkung und kann als indirekter Beweis für fermentative Vorgänge bei der Entstehung der Koagulationsnekrose angesehen werden. LIMMER hat dann bei einer Nachprüfung mit der Versuchsanordnung von BAUER nur bei Versuchen im Sommer, nicht aber bei Meerschweinchen mit Winterfütterung (Kleeheu), die totale Gerinnung des Leberpreßsaftes erzielen können.

Es konnte daher sein, daß ebenso wie bei der Blutgerinnung (v. KASSLA u. a.) auch bei der Protoplasmagerinnung die Ernährung (Vitamin K, Cumarin) einen Einfluß auf die Gerinnungsfähigkeit hat, insbesondere aber mußte wieder — trotz der Versuche BAUERS mit Hirudin und Thrombin — an eine Mitwirkung des Leberfibrinogens gedacht werden. Andererseits ergab sich aber auch bei dieser Nachprüfung, daß die Konzentration des Preßsaftes einen deutlichen Einfluß auf die Gerinnbarkeit und Gerinnungszeit ausübt. Es wurde deshalb die Methode dahin abgeändert, daß von dem bei 30° im Vakuumexsikkator getrockneten und pulverisierten Preßsafttrückstand für jeden Gerinnungsversuch eine mit der Torsionswaage abgewogene Pulvermenge in der Reibschale als Suspension gelöst wurde; so war es möglich, jeweils gleiche Konzentration des Leberextraktes herzustellen. Bei dieser abgeänderten Methode konnte man auch wesentlich kürzere Gerinnungszeiten erzielen, offenbar weil die Konzentration der Suspension höher eingestellt werden konnte. Trotzdem ergab sich wieder eine Hemmung bei Winterfütterung. Außerdem hemmte Erhitzen des Pulvers auf 56° die Gerinnung. Diese Hemmung konnte durch Zusatz von „frischem“ Leberpulver oder von Leberextrakten teilweise, d. h. mit Verlängerung der normalen Gerinnungszeit, wieder aufgehoben werden; es gelang übrigens durch Zufügen von geringen Mengen von Leberpreßsaft auch Nierengewebssaft zur Gerinnung zu bringen. Wenn auch LIMMER glaubt, daß all diese Versuchsergebnisse für komplizierte, wahrscheinlich fermentative Vorgänge bei der Gerinnung des Protoplasmaeiweißes sprechen, so war ein sicherer Beweis hierfür doch nicht erbracht. Insbesondere war nicht auszuschließen, daß die beobachteten Hemmungen und Förderungen der Gerinnung nicht doch durch Änderungen der Lösungsfähigkeit des Pulvers, Änderungen der Konzentration, Beimengungen und sonstige Beeinflussungen oder durch Ungenauigkeit der abgeänderten Methode bedingt waren. Vor allem war wieder die Frage einer Mitbeteiligung von Leberfibrinogen bei der Preßsaftgerinnung aufgeworfen.

Gemeinsam mit WENDT habe ich deshalb diese Fragen einer neuen Prüfung unterzogen. Zuerst mußte die Methode von BAUER und LIMMER noch weiter verbessert werden. Nach der Oxalatdurchspülung wurde die Leber nicht mehr ausgepreßt, sondern mit Seesand gerieben, das Zentrifugat bei 30° im Vakuumexsikkator getrocknet und pulverisiert. Beim eigentlichen Gerinnungsversuch haben wir nicht mehr Pulversuspension verwendet, sondern die nach Zerreiben und Zentrifugieren abgießbare klare opaleszierende Flüssigkeit. Dadurch war es möglich, den Eintritt der Totalgerinnung leichter zu erkennen, als bei der Suspension. Auch der Verlauf der Gerinnung konnte verfolgt werden: die klare opaleszierende Flüssigkeit wird trübe, es sondern sich

Flöckchen ab, die später gröber werden und am Glas hängenbleiben, die Masse wird zähflüssig und erstarrt schließlich. Um möglichst einwandfreie Vergleichsbedingungen zu erhalten, wurden auch die einzelnen Arbeitsvorgänge bei der Herrichtung zum Versuch immer gleich lang durchgeführt. Es hat sich aber gezeigt, daß geringe Änderungen dieser Zeiten keinen Einfluß auf den Gerinnungsvorgang ausüben. Zur Vermeidung von Verdünnung bei Zusätzen wurde so vorgegangen, daß die Zerreibung des Pulvers schon gleich mit der alle Zusätze enthaltenden Flüssigkeit erfolgte, z. B. mit Serum, Fermentlösung oder mit 4%iger CaCl_2 -Lösung. Auf diese Weise erhielten wir bei gleichem Organpulver immer die gleichen Gerinnungszeiten. Bei verschiedenen Tieren ergaben sich allerdings geringe Differenzen. So fanden wir bei Auflösung von je 10 mg Leberpulver in $0,1 \text{ cm}^3$ 4%iger CaCl_2 Lösung meist eine Gerinnungszeit von 9—12 Min., bei der halben Konzentration von 5 mg in $0,1 \text{ cm}^3$ eine solche von 20—30 Min. Die Kontrolle des Fortschreitens der Gerinnung erfolgte immer in gleichen Zeiträumen, meist alle 3 Min. Es hatte sich nämlich gezeigt, daß durch rein mechanische Beeinflussung, durch Schütteln z. B., der Gerinnungseintritt nicht nur verzögert, sondern vollständig verhindert werden kann. Schließlich sei noch erwähnt, daß das Trockenpulver wochenlang ohne Änderung der Gerinnungsfähigkeit aufbewahrt werden kann, erst nach 2—3 Monaten tritt Herabsetzung ein.

WENDT hat nun mit dieser abgeänderten Methode zunächst die Versuche LIMMERS nachgeprüft. Es konnte die Vermutung über Unterschiede der Gerinnungsfähigkeit von Lebereiweiß bei Winter- oder Sommerfütterung nicht bestätigt werden. Auch Gewicht, Alter, Geschlecht, Schwangerschaft bedingen keine wesentlichen Unterschiede. Mit diesen Feststellungen war eigentlich schon die Hypothese LIMMERS widerlegt, daß etwa mit Kleeheu aufgenommenes Cumarin ähnlich, wie auf den Prothrombinblutspiegel, auch auf die Lebereiweißgerinnung wirken könne. Die von LIMMER beobachteten Differenzen beruhten offenbar größtenteils auf wechselnden Flüssigkeitsgehalt der Leber und seinen wenigen Versuchen mit Pulver hafteten wohl auch noch Fehlerquellen der Methode an. Trotzdem untersuchte WENDT noch die Lebereiweißgerinnung durch CaCl_2 nach intravenöser Cumarininjektion ohne eine Herabsetzung gegenüber der Norm zu finden.

Mit diesen Resultaten war gleichzeitig auch die Annahme entkräftet, daß eben doch bei der Gerinnung von Lebereiweiß das — wie Prothrombin — in der Leber gebildete Fibrinogen eine Rolle spielen könne. Aber noch eine Reihe von anderen Gründen spricht gegen die Identität des gerinnungsfähigen Lebereiweißes mit Fibrinogen. Zunächst einmal konnte nach der neuen Methode auch Nierenprotoplasma

auf Calciumzusatz hin zur Gerinnung gebracht werden. Nur mußte das Nierenpulver zur Erzielung einer Totalerstarrung noch 10—12 Min. in etwas höherer Konzentration (15 mg auf 0,1 cm³) verwendet werden. Übrigens ergab sich bei diesen Versuchen auch noch ein Hinweis auf die ja ohne weiteres zu erwartende Verschiedenheit zwischen Leber- und Niereneiweiß. Beim Gerinnungsversuch mit Nierenpulver kam es schon bei Zimmertemperatur zur flockigen Ausfällung, bei Calciumzusatz zur wäßrigen Lösung, nicht aber bei Lebereiweiß. Zur Erzielung einer Totalgerinnung en masse mußte deshalb das Nierenpulver gleich in der entsprechenden Calciumlösung aufgelöst werden. Einen weiteren Beweis für die Verschiedenheit von Fibrinogen und Lebereiweiß ergab die mikroskopische Untersuchung der Gerinnung: nicht nur zeigt das Lebergerinnung keine positive Fibrinfärbung, auch die Struktur der Gallerte ist durchaus anders, als die des Fibrins. Bei ersterem besteht das schwammartige Gerüst aus kugeligen bis plattenähnlichen zusammenhängenden Gebilden im Gegensatz zu der ausgesprochen fädigen Struktur des Fibringerinnung. Bei Gerinnung aus einer Mischung von Lebereiweiß und Blutplasma lassen sich daher deutlich das Fibrin und die Lebereiweißanteile unterscheiden. Gegen die Übereinstimmung von Fibrin- und Lebereiweißgerinnung spricht außerdem die verschiedene mechanische Beeinflussbarkeit des Gerinnungsvorganges. Während nach den Untersuchungen von WÖHLISCH und FEIGEL Schütteln während des Gerinnungsvorganges eine Verkürzung der Fibringerinnungszeit hervorruft, konnten wir bei der Lebereiweißgerinnung eine Verlängerung, ja bei andauerndem Schütteln eine weitgehende Aufhebung der Gerinnungsfähigkeit beobachten; es wird dann die Totalgerinnung durch Ausflockung ersetzt. Es handelt sich aber nicht etwa um echte Thixotropie; denn erstens erfolgt ja trotz mechanischer Einwirkung die Ausflockung, also doch Gerinnung und zweitens kann die einmal geronnene Lebereiweißgallerte mechanisch zwar zerrissen, aber nicht vollständig verflüssigt werden, auch erfolgt nach der Zerreißung selbst bei langer Beobachtung keine Erstarrung mehr. Der sicherste Beweis gegen eine Identität des Lebereiweißes unserer Versuche mit Fibrinogen ist aber in dem Verhalten gegenüber Thrombokinasen, Thrombin und Hirudin gegeben. Weder der Zusatz von Thrombokinasen noch von Thrombin wirken auf die Calcium-Lebereiweißgerinnung beschleunigend. Auch bewirkt das Thrombin ohne Calcium keine Gerinnung des Oxalatelebereiweißes. Wenn man zur Leberlösung erst Thrombin zusetzt (um etwa doch noch beigemengtes Fibrinogen auszufällen), dann zentrifugiert und Calcium zusetzt, so erfolgt — obwohl doch sicher kein Fibrinogen mehr vorhanden sein kann — die Lebereiweißgerinnung in normaler Zeit. Und endlich verhindert Hirudin — wie schon BAUER beobachtete — auch

bei unserer neuen Versuchsmethode in keiner Weise die Gerinnung des Lebereiweißes. Aus allen diesen Gründen dürfte einwandfrei hervorgehen, daß es sich *bei der beobachteten Lebereiweißgerinnung nicht um Fibrinogengerinnung handelt.*

Gegenüber diesen negativen Feststellungen ist es nun natürlich wichtig zu erforschen, welche Rolle vor allem das Calcium beim Gerinnungsvorgang spielt, ob die Gerinnung des Lebereiweißes rein chemisch-physiologisch oder etwa doch enzymatisch bedingt ist. Zuerst einmal wurde bei der Organentblutung die Oxalatlösung durch physiologische Kochsalzlösung ersetzt. Während BAUER aus dem Nichtgerinnen des Leberpreßsaftes bei NaCl-Durchspülung auf eine hemmende Wirkung des NaCl geschlossen hatte (in Analogie der Fibringerinnungshemmung durch NaCl, WÖHLISCH), zeigte sich nun, daß der scheinbare Hemmungseffekt offenbar nur auf dem größeren Flüssigkeitsgehalt der Leber nach NaCl-Durchspülung und damit auf Verdünnung des Preßsaftes beruhte. Bei Herstellung eines Trockenpulvers blieb auch nach NaCl-Durchspülung die Gerinnungsfähigkeit des Protoplasmaeiweißes erhalten. Auch ohne jegliche Entblutung ließ sich aus der Leber ein Trockenpulver herstellen, das nach seiner Wiederauflösung durch Calcium zur Gerinnung gebracht werden kann; es mußte allerdings mehr Pulver zur Erzielung einer „normalen“ Gerinnungszeit verwendet werden, wohl deshalb weil beim nichtdurchspülen bluthaltigen Organ ja auch die Trockensubstanz des Blutes dem Pulver beigemischt ist, das dann eben verhältnismäßig weniger gerinnungsfähiges Protoplasmaeiweiß enthält. Weiter wurden noch die Verhältnisse bei kadaverösen Organen in Betracht gezogen. BAUER hatte trotz 38stündiger Aufbewahrung der Leber im Eisschrank noch Gerinnung des Preßsaftes gefunden. Aber bei Aufbewahrung im Eisschrank waren sicher die autolytischen Vorgänge gehemmt; aber auch bei 24stündiger Lagerung bei Zimmertemperatur konnten wir bei Entblutung mit NaCl- oder Oxalatlösung normale Gerinnungszeit erzielen; auch bei menschlichen Leichenorganen fanden wir mit der neuen Versuchsmethode Gerinnung des Protoplasmaeiweißes von Leber und Niere, was BAUER und LIMMER mit ihrer Methode nicht geglückt war. Erst bei fortgeschrittener Autolyse (oder beginnender Fäulnis) war die Gerinnungsfähigkeit völlig aufgehoben.

Die ursprüngliche Arbeitshypothese BAUERS, „daß nach dem Tode ähnlich der Blutgerinnung auch eine Gerinnung oder Denaturierung in dem Gewebe vor sich geht“, ist damit zum mindesten teilweise widerlegt, da ja in den ersten 24 Stunden noch gerinnungsfähiges Protoplasma extrahiert werden kann, und zwar auch ohne Oxalatdurchspülung, also ohne Calciumausschaltung. Weitere Versuche zeigten dann, daß die Gerinnung des Lebereiweißes ohne Calcium-

zusatz eintreten kann. Wenn allerdings eine Organentblutung durch Oxalatdurchspülung vorgenommen wurde, erfolgt die Gerinnung bei 37° erst sehr spät (nach etwa 6 Stunden) oder bleibt zuweilen völlig aus. Nach der Entblutung mit physiologischer Kochsalzlösung erfolgt aber die „spontane“ Gerinnung ohne Calciumzusatz schon nach 60 bis 90 Min., sowohl bei Leber- wie bei Niereneiweiß; es dürfte also fraglich sein, ob die von BAUER als „Sekundärgerinnung“ bezeichnete Koagulation nach 12—24 Stunden wirklich immer durch Bakterien oder sonstige sekundäre Veränderungen erfolgt und nicht doch zum Teil der „spontanen“ Gerinnung entspricht.

Jedenfalls lehren diese Versuche, daß zur Gerinnung eines gerinnungsfähigen Protoplasmaextraktes die vorherige Calciumausschaltung durch Oxalat nicht nötig ist, daß die Gerinnungsfähigkeit durch beginnende Autolyse nicht aufgehoben wird und daß endlich die Gerinnung auch „spontan“ ohne Calciumzusatz eintritt, daß das Calcium nur gerinnungsbeschleunigend wirkt.

Weitere Probleme bieten die beobachteten Gerinnungshemmungen. Zunächst die „Inaktivierung“ des Leberpulvers durch Erhitzen auf 56°. Bei der Methode LIMMERS zeigte sich Aufhebung der Gerinnbarkeit, bei der Nachprüfung mit der neuen Versuchsanordnung ergab sich dagegen nur eine Verlängerung der Gerinnungszeit und bei der Nachprüfung der Hemmung durch CO (BAUER) konnte mit der neuen Methode überhaupt keine Wirkung erzielt werden. Die vermutete Inaktivierung bzw. Vergiftung eines „Fermentes“ ist mit diesen Befunden sehr unwahrscheinlich geworden. Die Verlängerung der Gerinnungszeit nach Erhitzen auf 56° läßt sich ohne weiteres auch so erklären, daß durch Erhitzen das Pulver an Löslichkeit einbüßt und deshalb die schwächer konzentrierte Eiweißlösung später gerinnt, oder daß „hemmende“ Substanzen sich bilden (vgl. im inaktiven Serum, weiter unten). Die negativen Ergebnisse bei CO-Vorbehandlung könnte man nur so erklären, daß die schwache Hemmungswirkung bei der neuen Methode durch die fördernde Calciumwirkung ganz überdeckt wird. So ließe sich erklären, daß CAIN bei Implantaten doch eine — wenn auch gegenüber Oxalat geringe — hemmende Wirkung des Kohlenoxydes gefunden hat.

Noch schwerer erklärbare Befunde ergeben Versuche über die Gerinnung von in Plasma und in Serum gelöstem Leberprotoplasma. In vielen Versuchen verschiedener Untersucher wurde durch Einwirkung von Serum oder Plasma an Explantaten eine geronnene Randzone erzeugt und (wie die geronnene Randzone bei Implantaten und Infarkten) durch Serumwirkung erklärt. Löst man nun Leberpulver unter Ca-Zusatz in Serum oder Plasma auf, so tritt im aktiven Serum oder Plasma die totale Gerinnung schneller ein, als bei Verwendung von

Serum und Plasma, das durch Erhitzen auf 56° inaktiviert wurde. Man könnte also ohne weiteres an einen thermolabilen „gerinnungsfördernden Faktor“, an ein gerinnungsförderndes Ferment denken, das im aktiven Serum und Plasma vorhanden ist und beim Erhitzen zerstört wird. Vergleichen wir aber diese Gerinnungszeiten mit Kontrollen, bei denen ohne Serum und Plasma (aktiv oder inaktiv) nur CaCl_2 -Zusatz die Gerinnung hervorruft, dann sehen wir, daß die Gerinnungszeiten der Kontrollen kürzer sind, daß also sowohl das aktive Serum und Plasma, noch mehr aber beide durch Erhitzen auf 56° inaktiviert gegenüber den Ca-Kontrollen später gerinnen. Somit ist es zum mindesten fraglich, ob die schnellere Gerinnung bei aktivem Serum auf eine Gerinnungsförderung beruht, ob nicht vielmehr durch inaktives Serum eine vermehrte Gerinnungshemmung bewirkt wird, ja ob nicht schon durch Zusatz von aktivem Plasma oder Serum die Gerinnung gehemmt wird, wenn auch nicht so stark wie durch die inaktivierten Zusätze. Diese „Hemmungswirkung“ von Serum und Plasma würde gut übereinstimmen mit der Beobachtung von BAUER, wonach Leberpreßsaft und Plasma gegenseitig gerinnungshemmend aufeinanderwirken. Weiter läßt sich die hemmende Wirkung von Serum und Plasma aus Versuchen mit Trypsin erkennen. Zunächst einmal zeigt sich, daß Trypsin, besonders Trypsin mit labender Wirkung (WITTE), die Gerinnung von Lebereiweiß fördert. Am besten eignet sich meist eine Lösung von 0,5—1% zum Nachweis der Gerinnungsförderung, bei stärkeren Konzentrationen wird so gut wie regelmäßig die Gerinnung nämlich überhaupt aufgehoben, da offenbar dann die eiweißandauende Trypsinwirkung eine Gerinnung unmöglich macht; manchmal kann man dann zwar noch deutlich ein früheres Auftreten von Ausfällungen, Flöckchenbildung beobachten, aber die totale Gerinnung zur Gallerte bleibt aus. Auch bei älteren oder schwächer konzentrierten und deshalb nicht so leicht gerinnenden Lebereiweißlösungen kommt es durch verdauende Fermente manchmal nur zu Ausfällungen oder überhaupt nur zur Eiweißverdauung. Trotz solcher Schwierigkeit bei der Versuchsausführung läßt sich aber nachweisen, daß Tryptase mit oder ohne gleichzeitige Calciumwirkung die Gerinnung gegenüber den entsprechenden Kontrollen fördert und daß durch Aufkochen der Trypsinlösungen die gerinnungsfördernde Wirkung der Tryptase aufgehoben wird; aber im Gegensatz zu der Serumwirkung liegt hier wirklich eine Beschleunigung durch Tryptasewirkung und andererseits keine Hemmung bei inaktivierter Tryptase vor. Läßt man aber aktive oder inaktivierte Tryptase in Serum- (oder Plasma-) Lebereiweißlösungen zur Wirkung kommen, so ist überhaupt keine fördernde Beeinflussung der Gerinnung mehr erkennbar. Es finden sich Gerinnungszeiten, als ob nur Serum oder Plasma im Versuchsansatz vorhanden

sei, also nur die oben beschriebene Hemmung wird beobachtet. Dieser Befund kann in Beziehung gebracht werden mit den Beobachtungen von TERBRÜGGEN und THOMSEN bei den Explantatversuchen im inaktivierten Serum, die durch Erhitzen verloren gegangene Fähigkeit des Serums zur Erzeugung einer „Randzone“ am Explantat kann auch durch Proteasenzusatz zum inaktiven Serum nicht mehr hervorgerufen werden. In beiden Fällen läßt sich dies nur so erklären, daß die Proteasenwirkung durch „Sistoproteasen“ des inaktiven Serums gehemmt wird, und zwar die zweifache Proteasenwirkung, nämlich die der Verdauung (Randentkernung) und die der Gerinnungsförderung des Leberprotoplasmas. Die Hemmung hinsichtlich der „Entkernung“ und „Protoplasmagerinnung“ ist aber unterschiedlich, bei der Entkernung total, bei der Gerinnung nur verzögernd, denn am Explantat sehen wir ja in der Randzone auch bei inaktivem Serum Lumineszenz (THOMSEN), also Gerinnung, und das extrahierte Lebereiweiß gerinnt ja schließlich auch, wenn auch verzögert. Erlaubt also diese Beobachtung, daß wir für beide Effekte, für Kernandauung wie für Koagulation, die gleiche Ursache, nämlich Proteasenwirkung annehmen?

Nachwort und Zusammenfassung.

Ich erfülle den Wunsch H. GROLLS, wenn ich das unvollendete Manuskript, zu dem sich keine weiteren Aufzeichnungen fanden, durchsehe und herausgebe. War es eine Vorahnung kommenden Todes, die ihn drängte, in den unfreundlichen Tagen des harten Winters 1946/47 die Grundgedanken seines Hauptarbeitsgebietes, deren beharrliche Entwicklung seine eigenen Veröffentlichungen und die Arbeiten seiner Schüler zeigen, zusammenfassend darzustellen? So wächst noch einmal in diesen Zeilen das Werk seiner Würzburger Jahre heraus aus den Anfängen einer kritischen Betrachtung des Wesens von Autolyse und Gerinnungsnekrose.

In zusammenfassender Betrachtung, die sich auf eine ganze Reihe von Einzeluntersuchungen stützt, wird der Gedanke einer fermentativ bedingten Karyolyse bei der Koagulationsnekrose entwickelt und zwar im Gegensatz zu Anschauungen, die in einer Art chemischer Auslaugung des Chromatins oder in einem „Nekrotisierungseffekt“ gewebserstörender Stoffe des lebenden Gewebes und seiner Säfte die Ursache der Chromatolyse beim Gewebsuntergang sehen, oder welche die Einwirkung eines thermolabilen Serumfaktors oder auch anoxämische Schädigungen bei der Kernauflösung anerkennen.

Die Bedeutung des Kernschwundes für die Beurteilung einer Nekrose wird dahin zusammengefaßt, daß der Kernschwund ein Kardinalsymptom der Nekrose ist, wenn kadaveröse Vorgänge ausgeschlossen werden können, daß aber auch eine Nekrose bei *erhaltener*

Kernfärbung vorliegen kann. Die Auflösung der Chromatinsubstanzen beim Kernschwund erfolgt durch proteolytische intracelluläre und humorale Fermente (Kathepsine, Tryptasen), also durch fermentative Autolyse und Heterolyse; quantitative und qualitative Unterschiede können hierbei durch verschieden langes Überleben einzelner Zellen, durch wechselnden Fermentgehalt, unterschiedlichen stofflichen Aufbau der Zellen sowie durch intravitale oder postmortale Zustandsänderungen (wie z. B. durch schnelle Koagulation der Zelleiweiße), insbesondere aber durch Verschiebungen der Wasserstoffionenkonzentration zur sauren oder alkalischen Seite hin bedingt sein.

Während die gesunde Zelle gegen proteolytische Fermente in physiologischer Konzentration resistent ist, unterliegen die Chromatinsubstanzen geschädigter Zellen offenbar ebenso wie die des toten Gewebes der „Verdauung“ durch Proteinasen, die bis zum völligen Kernschwund geht; dysorisch bedingte Störungen des Zellstoffwechsels, Anoxämie, Änderungen der Oberflächenspannung, des elektrischen Potentials oder der Wasserstoffionenkonzentration können dabei die „vitale Resistenz“ der Zelle herabsetzen und sie für aktivierte Eigenenzyme oder für im Serum herangeführte Fermente angreifbar machen.

Der Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration auf die Fermentwirkung erklärt auch die wechselnden Befunde von Kernschwund bei Autolyse und Infarkten, besonders das Auftreten einer kernlosen Randzone am implantierten Gewebe bei erhaltener Kernfärbung der zentralen Abschnitte. Innerhalb des lebenden Organismus schlägt die in einem Nekrosebezirk anfänglich auftretende Acidose von außen nach innen fortschreitend bald in alkalische Reaktion um; es läßt sich nachweisen, daß dieser alkalische Reaktionsumschlag die anfängliche (autolytisch und acidotisch bedingte) Kathepsinwirkung hemmt und die vom Rande her eindringende Tryptasewirkung des Plasmas und der Lymphe fördert. Dieses hat wechselnde Befunde zur Folge: entweder eine gleichmäßige Kernlosigkeit der Nekrose durch allgemeine Tryptasewirkung (besonders bei kleineren, schnell alkalisch gewordenen und gut durchströmten Nekrosebezirken); oder eine periphere Kernauflösung durch Tryptaseeinwirkung mit einer gleichzeitig weiter-schreitenden zentralen, acidotisch bedingten autolytischen Auflösung; oder eine durch Alkalose allgemein gestoppte autolytische Gewebsauflösung mit zentral erhaltener Kernfärbung bei nur langsam oder unvollständig vordringender Randentkernung durch plasmogenen Tryptaseeinfluß.

In der Frage der *Protoplasmagerinnung* bei der Koagulationsnekrose wird vorausgeschickt, daß eine Unterscheidung von Präcipi-

tation, Koagulation und Denaturierung nicht haltbar ist; es handelt sich hierbei grundsätzlich immer um gleichartige kolloidchemische Vorgänge (um Festwerden von Kolloiden „durch Verminderung des Dispersitätsgrades der dispersen Phase unter Aufgabe der Homogenität der räumlichen Verteilung“ nach OSTWALD).

Bei der Koagulationsnekrose liegt zweifellos eine echte Protoplasmagerinnung vor. Sie wird bewiesen durch Unlöslichkeit und mangelnde Quellungsfähigkeit des koagulierten Eiweißes, weiter durch eine relative Resistenz des geronnenen Zelleiweißes gegen Proteinasen im Gegensatz zu lebendem ungeronnenen Zelleiweiß (bedingt wird diese Resistenz durch die mangelhafte Quellfähigkeit und die dadurch bewirkte erschwerte Durchdringung und Angreifbarkeit koagulierten Eiweißes durch Fermente); sie läßt sich ferner durch die Luminiscenzmikroskopie nachweisen.

Eine Fibringerinnung ist in keiner Weise an der Protoplasmagerinnung beteiligt. Versuche an Leberpreßsäften zeigen keine Fibrinfärbung des Gerinnungsproduktes, die Struktur der dabei entstehenden Gallerte ist durchaus anders als die des Fibrins, Schütteln ruft — im Gegensatz zur Fibrinausfällung — keine Verkürzung sondern eine Verlängerung der Gerinnungszeit, ja sogar eine weitgehende Aufhebung der Gerinnungsfähigkeit hervor, und endlich ändert eine Fibrinogenausschaltung aus dem Leberpreßsaft (z. B. durch Thrombinzusatz) nicht im geringsten das Bild der Lebereiweißgerinnung.

Es erhebt sich die Frage, ob die Protoplasmagerinnung fermentativer Natur ist. Es läßt sich nachweisen, daß Trypsinase die Eiweißgerinnung fördert; die gerinnungsfördernde Wirkung wird naturgemäß durch Kochen der Trypsinlösung aufgehoben, sie wird aber auch schon durch einfachen Serum- und Plasmazusatz gehemmt. Dieses letztere Ergebnis steht vielleicht in Beziehung zu Beobachtungen bei Explantatversuchen, nach denen bei Inaktivierung des Serums der nachträgliche Zusatz von Proteasen keine Randentkernung mehr hervorruft (TERBRÜGGEN und THOMSEN). Vermutlich sind es „Sistoproteasen“ des inaktivierten Serums, die sowohl die Randentkernung als auch die Gerinnung des Leberprotoplasmas hemmen oder verzögern. Läßt sich aus diesen Beobachtungen und aus dieser Annahme der Schluß einer einheitlichen Fermentwirkung für den Kernschwund wie für die Koagulation nekrotischen Gewebes ziehen?

Mit dieser Problemstellung endet GROLLS Arbeit auf der Höhe der gedanklichen Entwicklung, ohne Abschluß und unvermittelt, wie auch sein Leben endete. Möge sein Andenken mit seinem Werke fortleben.

ERICH MÜLLER, Würzburg.

Literatur.

- ARNHEIM, G.: Virchows Arch. **120**, 367 (1890). — ARNHOLDT, F.: Virchows Arch. **299**, 710 (1937). — BALDASSI, G.: Ref. Ber. Physiol. **91**, 233 (1936). — BATELLI-STERN: Biochem. Z. **34** (1911). — BAUER, J.: Frankf. Z. Path. **57**, 122 (1943). — BAUM, L.: Frankf. Z. Path. **53**, 220 (1939). — BAYERLE, H. u. G. BORGER: Beitr. path. Anat. **103**, 215 (1939). — BOERNER-PATZELT: Arch. exper. Path. (D) **99**, 253 (1923). — BENEKE, R.: Beitr. path. Anat. **74**, 2 (1925). — BITTER, E. Inaug.-Diss. Würzburg 1942. — BORGER-MAYR: Hoppe-Seylers Z. **234**, H. 6 (1935). — BORGER-BAYERLE-MAYR u. PETERS: Hoppe-Seylers Z. **237**, H. 1 (1935). — BORGER-PETERS-KURZ: Hoppe-Seylers Z. **217**, 255 (1933). — BORST, MAX: ASCHOFFS Lehrbuch, 8. Aufl., Bd. I, S. 571. 1936. — BRADLY, H. C.: J. of biol. chem. (Am.) **57**, 164 (1923). — Physiol. Rev. (Am.) **2**, 415 (1922). — CAIN, H.: Frankf. Z. Path. **58**, 171 (1944). — COQUI, R.: Inaug.-Diss. Würzburg 1939. — DIETRICH, A.: Allgemeine Pathologie und pathologische Anatomie Bd. I, S. 60. Leipzig: S. Hirzel 1935. — Verh. dtsh. path. Ges. **27**, 260 (1934). — DOLJANSKI, V.: Zit. nach SCHÜRMANN, Virchows Arch. **291**, 418 (1933). — ERNST, P.: KREHL-MARCHANDS Handbuch der allgemeinen Pathologie, Bd. 3, H. 1. Leipzig: S. Hirzel 1915. — FAHR, E.: Virchows Arch. **310**, 123 (1943). — GAZA, W. v.: Verh. dtsh. path. Ges. **27**, 259 (1934). — BRUNS' Beitr. **110**, 337 (1918). — GROLL, H.: Krxh.forsch. **5**, 126 (1927). — Beitr. path. Anat. **92**, 518 (1933/34); **103**, 271 (1939). — Z. exper. Med. **101**, H. 4 (1937). — GUILLERY, H.: Virchows Arch. **304**, 317, 336 (1939). — Frankf. Z. Path. **53**, 522 (1939). — GUMMEL, H.: Inaug.-Diss. Berlin 1935. — HADLICH, R.: Inaug.-Diss. Würzburg 1939. — HEIM, G.: Frankf. Z. Path. **53**, 390 (1939). — HOERNER, O.: Z. Krebsforsch. **51**, 365 (1941). — Verh. dtsh. path. Ges. **30**, 338 (1937). — HUECK, W.: Morphologische Pathologie. Leipzig: Georg Thieme 1937. — ISRAEL, O.: Virchows Arch. **123**, 310 (1891). — KAULLA, K. N. v.: Klin. Wschr. **1943**, 205. — Münch. med. Wschr. **1943**, 399. — KIRCHHEIM: Arch. exper. Path. (D.) **1911**, 352; **1913**, 1, 139, 374; **1914**, 387; **1915**, 99. — KLEBS, E.: Allgemeine Pathologie, Bd. II, S. 10. Jena: Gustav Fischer 1889. — KOLLER, F. u. F. LEUTHARDT: Klin. Wschr. **1934** II, 1527. — KRAUS: Arch. exper. Path. (D.) **22**, 174 (1887). — KRAUS, E. J. u. L. SUSSIG: Virchows Arch. **237**, 265 (1922). — LETTERER, E.: Verh. dtsh. path. Ges. **27**, 254 (1934). — LEUTHARDT, F.: Kolloidchem. Beitr. **28**, 262 (1929). — LIMMER Inaug.-Diss. Würzburg 1944. — LÖBBERT, O.: Virchows Arch. **304**, 345 (1939). — MANSTEIN, B.: Virchows Arch. **294**, 120 (1935). — MAYER, B.: Inaug.-Diss. München 1938. — MERKLE, G.: Beitr. path. Anat. **92**, 518 (1933/34). — MOEGEN, P.: Frankf. Z. Path. **54**, 352 (1940). — MOENNIGHOFF, F. H.: Beitr. path. Anat. **102**, 87 (1939). — MOOS, M.: Virchows Arch. **195**, 273 (1909). — MÜLLER, R.: Frankf. Z. Path. **52**, 433 (1938). — OPPENHEIMER: Die Fermente und ihre Wirkungen, Suppl. 1936 u. Bd. 2, 1926. — ORSOS, F.: Beitr. path. Anat. **95**, 163 (1935). — PETER, H.: Verh. dtsh. path. Ges. **29**, 245 (1936). — RAPPOPORT, A. E.: Z. exper. Med. **99**, 537 (1936). — RAPPOPORT, A. E. u. S. GRÄFF: Erg. Path. **33**, 181 (1937). — REMESOW u. KLEINMANN: Biochem. Z. **196**, 146 (1928). — RIBBERT, H.: Virchows Arch. **155**, 201 (1899). — RIBBERT-HAMPERL: Lehrbuch für allgemeine Pathologie und pathologische Anatomie, 12. Aufl. 1939. — RICH u. DUFF: The Johns Hopkins University, School of Medicine, Bd. 61. Baltimore: Maryland 1937. — RICHTER, P.: Arb. path. anat. Inst. Tübingen **5**, 25 (1906). — RÖSSLE, R.: Handbuch für spezielle pathologische Anatomie Bd. V/1. — Virchows Arch. **291**, 1 (1933). — Sber. preuß. Akad. Wiss., Berl., physik.-math. Kl. **1936**, III bis V. — In ASCHOFF, pathologische Anatomie, 7. Aufl., Bd. I, S. 324. 1928. — RONA, P.: Praktikum der physiologischen Chemie. Berlin: Springer 1931. — SCHÄFFER, TH.:

Inaug.-Diss. Berlin 1937. — Virchows Arch. **302**, 455 (1938) — SCHANZ, W.: Inaug.-Diss. Würzburg 1939. — SCHMAUS, H. u. EV. ALBRECHT: Virchows Arch. **138**, Suppl. 1 (1895). — SCHMIDT-BRÜCKEN, W.: Inaug.-Diss. Würzburg 1943. — SCHNAPPAUFF, U.: Beitr. path. Anat. **79**, 781 (1928). — SCHÜRMANN, P.: Verh. dtsch. path. Ges. **27**, 101 (1934); **29**, 234 (1936). — SIEGMUND, H.: Verh. dtsch. path. Ges. **29**, 251 (1936). — SIEGMUND, H. u. H. DIETRICH: Handbuch für spezielle pathologische Anatomie, Bd. 8, S. 933. — STÄMMLER, M.: Verh. dtsch. path. Ges. **29**, 251 (1936). — TERBRÜGGEN: Beitr. path. Anat. **98**, 264 (1936/37). — Klin. Wschr. **1937**, 285. — Zbl. inn. Med. **63**, 8 (1942). — THOMSEN, J.: Inaug.-Diss. Würzburg 1942. — WACKER, L.: Virchows Arch. **236**, 225 (1922). — Biochem. Z. **184**, 192 (1927). — WALDSCHMIDT-LEIZ: Zit. nach BORGER. — Z. physiol. Chem. **132**, 181 (1924). — In R. WILLSTÄTTER, Untersuchungen über Enzyme, Bd. 2. 1928. — WEIGERT, C.: Virchows Arch. **79**, 87 (1880). — WÖHLISCH, EDGAR: Kolloid-Z. **85**, H. 2/3 (1938). — WÖHLISCH-WEITNAUER u. GRÜNING: Biochem. Z. **307**, 325 (1940). — WU: Zit. nach Handbuch der normalen und pathologischen Physiologie, Bd. 16/1, S. 1077. 1930. — Ber. Physiol. usw. **41**, 461, 462, 596 (1927); **66**, 10 (1932). — ZEINER, A.: Inaug.-Diss. Würzburg 1940.